E & A

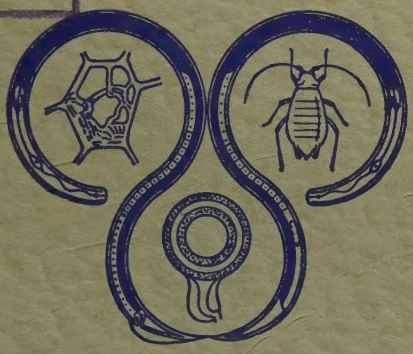
TIJDSCHRIFT OVER PLANTEZIEKTEN

COMMONWEALTH INST.
ENTOMOLOGY LIBRARY
29 DEC 1958
SERIAL Eu. 86
SEPARATE

JAARGANG 64 - 1958

5e en 6e AFLEVERING

VAN SLOGTEREN-NUMMER



Uitgave van de

NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Onder Redactie van

Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr. H. H. EVENHUIS;
Dr. J. A. A. M. H. GOOSSENS; Prof. Dr. A. J. P. OORT; Mej. F. QUAK;
en Dr. J. P. H. VAN DER WANT (Secretaris)

Redactie-adres: Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek,
Binnenhaven 4*a*, Wageningen

BESTUUR

VAN DE NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Dr. P. M. L. Tammes, Wageningen, *Voorzitter*
Ir. J. A. J. Veenenbos, Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen, *Secretaris*
Dr. A. P. Kole, Lab. v. Phytopathologie, Binnenhaven 4, Wageningen, *1e Penningmeester.* Postrekening no. 923165 ten name van Penningmeester van de Nederlandse Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen
Mej. F. Quak, Binnenhaven 4a, Wageningen, *2e Penningmeesteresse*
Dr. Ir. C. Mastenbroek, Hoofddorp
Prof. Dr. A. J. P. Oort, Wageningen
P. Smeding, Leeuwarden
W. Tuin, Zuidwolde

Lidmaatschap Ned. Planteziektenkundige Vereniging

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 7,50, België f 7,50, Buitenland f 8.50. Leden ontvangen het tijdschrift gratis.

Abonnement Tijdschrift

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 10,—, België f 10,—. Buitenland f 13,50 Betalingen op postrekening 923165 t.n.v. Penningmeester Ned. Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen.

Advertentiën

Prijzen per plaatsing: ⅛ pag. f 12,50; ¼ pag. f 20,—; ½ pag. f 30,—; 1 pag. f 55,—.
Bij 3 maal plaatsen van dezelfde advertentie 10 procent korting.
Bij 6 maal plaatsen van dezelfde advertentie 20 procent korting.

Voor plaatsing wende men zich tot de secretaris der Redactie-Commissie, p.a. Binnenhaven 4*a*, Wageningen, tel. 2151, of tot H. Veenman & Zonen, Wageningen, tel. 2242.

INHOUD

Blz.

Ten geleide (door v. d. W.) 341
Ir. A. W. VAN DE PLASSCHE – Bij het afscheid van Professor van Slogteren 342
Jhr. Mr. Dr. O. F. A. H. VAN NISPEN TOT PANNERDEN – Professor van Slogteren en de praktijk 343
Dr. A. J. VERHAGE – Professor van Slogteren en de bloembollenexport 346
Dr. J. J. BEIJER – Professor van Slogteren en het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek 350

E. C. STAKMAN – Internationalism in plant pathology 354
W. C. MOORE – The biological basis of the plant import legislation of England and Wales 357
W. H. WHEELER – Professor Dr. E. van Slogteren, protector of Dutch bulbs 361
C. J. BRIEJÈR – Koers houden op het wetenschappelijk onderzoek 364
J. H. BRUST – De betekenis van het werk van Professor van Slogteren voor de Nederlandse pootaardappelteelt 368
A. ROZENDAAL – De betekenis van Professor van Slogteren voor het serologisch onderzoek van de aardappelvirusziekten 371
C. WESTCOTT – Plant doctoring is fun 379

(Vervolg op pag. 3 omslag)

TIJDSCHRIFT OVER PLANTEZIEKTEN
VAN SLOGTEREN-NUMMER

BIJ HET AFSCHEID VAN PROFESSOR VAN SLOGTEREN

DOOR

Ir. A. W. VAN DE PLASSCHE

Directeur-Generaal van de Landbouw

Prof. VAN SLOGTEREN heeft van zijn werk wat gemaakt. Dit zal zeker de conclusie zijn waartoe al degenen, die dit kunnen beoordelen, zullen komen.

Eenvoudig begonnen, maar met een goede basis door zijn biologische studie en bezield met een groot enthousiasme voor het werk dat hem was toevertrouwd, heeft hij zich in alle aspecten van de bloembollencultuur een goed inzicht weten te verwerven. Daardoor was het hem mogelijk de problemen op de juiste wijze te analyseren en belangrijk wetenschappelijk onderzoek te verrichten.

Voor de man van de wetenschap is het van de allergrootste betekenis, dat hij het geheel overziet en zich doelbewust bezighoudt met datgene wat op een bepaald moment ook werkelijk van belang is.

Prof. VAN SLOGTEREN heeft dit met de nodige durf weten te doen. Dezelfde durf, waarmee hij de toerusting van zijn laboratorium heeft ontwikkeld in een tempo en tot een omvang, die in overeenstemming zijn met de recente vooruitgang van wetenschap en techniek.

Hij heeft steeds voor ogen gehouden, dat het belang van zijn werk met zich bracht, dat hij dit moest kunnen verrichten te midden van de bloembollencultures. Dit bood hem immers de gelegenheid dagelijks in nauw contact met de kwekers te komen en aldus naast de planteziektenproblemen ook het bedrijf door en door te leren kennen.

De kwekers zijn hem daar steeds dankbaar voor geweest en hebben hem de financiële steun, die hij nodig had om zijn laboratorium tot de tegenwoordige omvang uit te breiden, niet onthouden. Zij hebben dit gedaan, niet zozeer om hem persoonlijk een genoegen te doen, maar op grond van de overtuiging dat zijn arbeid ook daadwerkelijk resultaten opleverde.

Prof. VAN SLOGTEREN is door dit alles voor de bollenstreek meer dan de gespecialiseerde plantendokter; hij is ook de man, die meeleeft in de technische, economische en sociale moeilijkheden, die de kweker op zijn weg ontmoet. En toch heeft dit medeleven niet tot vervlakking van zijn wetenschappelijke arbeid geleid, een gevaar, dat steeds aanwezig is, wanneer men wetenschap en praktijk zo nauw aan elkaar verbindt.

Een bewijs voor zijn veelzijdig inzicht is zeker, dat hij zijn wetenschappelijke arbeid ook ten dienste van andere takken van bedrijf heeft gesteld en niet eenzijdig de bloembollen tot onderwerp van studie heeft gemaakt. Ook de virusaantastingen van landbouwgewassen, zoals aardappelen en suikerbieten en tal van tuinbouwgewassen, hadden niet alleen zijn belangstelling, maar hij was bovendien genegen arbeid ten dienste daarvan te verrichten.

Prof. VAN SLOGTEREN kan terugzien op een werkzaam leven, dat stond in het teken van grote toewijding voor zijn werk. Gemakkelijk heeft hij het niet altijd gehad, want wie veel tot stand wil brengen ontmoet ook veel tegenslag op zijn weg. Hij heeft die moeilijkheden echter steeds op de hem eigen energieke wijze weten te overwinnen.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 343–345

PROFESSOR VAN SLOGTEREN EN DE PRAKTIJK

DOOR

JHR. MR. DR. O. F. A. H. VAN NISPEN TOT PANNERDEN

Voorzitter van de Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur

Zal dit tijdschrift op de eerste plaats een getuigenis willen zijn van de betekenis van VAN SLOGTEREN in en voor de wetenschappelijke wereld, toch is er daarnaast nog een andere „wereld", die, zij het met enige schroom, daarin gaarne een ander aspect van zijn persoonlijkheid, zijn leven en werken wil belichten en dat is: de praktijk, het bloembollenbedrijf.

Als geen ander heeft „de professor" het verstaan om met de bloembollenkwekers en -handelaren om te springen. Zij zelf zijn de eersten, die erkennen, dat dit een juiste term is, de eersten ook, die erkennen dat dit lang niet eenvoudig is.

Toch is hij daarin meer dan wie ook geslaagd. Waarachtig niet omdat hij zo gemakkelijk was, maar omdat hij respect wist af te dwingen door de resultaten van zijn werk, niet schroomde hen de waarheid te zeggen en onkreukbaar was jegens allen en onder alle omstandigheden.

Nooit is het iemand gelukt als er privé-belangen op het spel stonden de professor voor zijn karretje te spannen; maar wel is het hem gelukt het gehele bloembollenvak voor zijn karretje te spannen van het wetenschappelijk onderzoek!

Och, er werd wel eens goedmoedig gespot met het „konijnenpaleis", dat de professor had laten bouwen, met de grote uitbreiding der laboratoria in de laatste jaren, maar eigenlijk is heel het bloembollenvak er toch wel trots op dat „het" laboratorium er zijn mag en aan de eisen van deze tijd voldoet.

En al betaalt men wel wat brommend zijn heffingen voor algemene vakdoeleinden, waaruit het wetenschappelijk onderzoek mede voor een belangrijk deel wordt bekostigd, toch zou niemand dit willen missen, weet iedereen, dat we het niet kunnen missen en streelt het toch ook wel een beetje de eigen voldoening, dat een groot deel van de laboratoria, de kassen en het instrumentarium door het bloembollenbedrijf zijn gebouwd of aangeschaft. Maar de bereidheid daartoe en de waardering voor dit onderzoek zijn in zeer hoge mate te danken aan „de professor".

„Toen ik in 1917 mijn werk in Uw midden begon, was de belangstelling voor het wetenschappelijk onderzoek matig en de verwachting over het algemeen niet groot," aldus getuigde hij zelf in een rede, welke hij in 1941 voor de Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur te Haarlem heeft gehouden. Van de hem aangeboren hoffelijkheid mag verwacht worden dat dit zacht was uitgedrukt.

In 1957, veertig jaren na dit begin, mocht ik, in een zelfde bijeenkomst te Haarlem, getuigen, dat de belangstelling voor het wetenschappelijk onderzoek zich van matig tot intens heeft ontwikkeld en dat de verwachting, die in den beginne niet groot was, in het geheel geen verwachting meer was, doch was vervangen door zekerheid, gestaafd door feiten en resultaten in het verleden – door overtuiging, aan die feiten en resultaten ontleend, voor de toekomst.

Inderdaad, de feiten, de resultaten van zijn werk hebben een grote rol gespeeld in de bewustwording van de waarde van het onderzoek door de praktijk. Maar eveneens, en wellicht nog méér, is dit te danken aan de persoonlijkheid van VAN SLOGTEREN. Toen hij in 1917, praktisch zonder ervaring op dit speciale terrein, zonder veel middelen en materiële mogelijkheden het bloembollenbedrijfsleven binnenstapte en wist dat hij stond voor een moeizame opbouw van wat thans zo succesvol zijn levenswerk is geworden, heeft hij die uitdaging aangenomen met het uitspreken van een overtuiging, die hij al die jaren als grondslag voor zijn werk is blijven aanvaarden. Zelf heeft hij deze geformuleerd als „de noodzakelijkheid van een onverdeelde eenheid van alle problemen, welke voor de bloembollencultuur van vitaal belang zijn en van allen, die in welke hoedanigheid ook bij deze zijn betrokken". Zo heeft hij van den beginne theorie en praktijk, wetenschappelijke onderzoeker en deskundige kweker bijeengebracht rondom het gemeenschappelijk object van beider belangstelling, de levende plant.

Nimmer heeft de professor zich teruggetrokken in de ivoren toren der geleerdheid, integendeel, hij schroomde niet om raad te vragen, overleg te plegen met deskundigen uit de praktijk voor wier inzicht hij respect wist op te brengen. Zo betrok hij de praktijk bij zijn werk, bij het werk zélf en niet alleen bij de resultaten daarvan.

In een voordracht, gehouden voor de algemene vergadering van de Hollandsche Maatschappij der Wetenschappen in 1955, zegt hij, na een vergelijking getrokken te hebben met het werk van de „mensendokter": „De plantendokter schijnt in het voordeel te zijn, doordat de psychiatrie, de neurologie en de ingebeelde ziekten buiten zijn arbeidsveld schijnen te liggen. Dit is zeker meer schijn dan werkelijkheid. De ingebeelde ziekten zijn een nachtmerrie voor de plantendokter, die werkt in een land, dat zijn agrarische producten moet uitvoeren, terwijl de psychologie om de hoek komt kijken, wanneer hij staat tegenover de kwekers, die zowel de rol van verplegers als die van de moeders der zieke kinderen vervullen. En evenals de medicus het niet kan stellen zonder de hulp van goede verplegers, in het bijzonder, waar het het welzijn van de gehele mens betreft, zal de plantendokter de volle medewerking moeten hebben van de intelligente en ervaren kweker, die voor hem onmisbaar is in het team van deskundigen, die het welzijn van de gehele plant ter harte gaat."

Met nimmer aflatende energie heeft hij zijn standpunt ook daadwerkelijk „in de praktijk" gebracht. Niet alleen een kleine kring van deskundige kwekers betrok hij bij zijn werk, neen, in de talloze vergaderingen van de organisaties en groepen was hij steeds present, bereid om raad en voorlichting te geven, bereid ook om te luisteren naar de problemen en de meningen van hen, die dagelijks met de bloembollen te maken hebben in kwekerij of exporthandel.

Zo wist hij zelf mede te leven, zo wist hij ook het medeleven met zijn problemen, zijn wensen, te wekken en te behouden. Men begreep en vertrouwde hem; hij begreep de kwekers in hun sterke en hun zwakke zijden, in hun problemen en mentaliteit en hij vertrouwde steeds weer op hun gezond verstand en hun inzicht. Onbegrijpelijk was hij alleen maar als hij in de vergadering van de Commissie voor het Wetenschappelijk Onderzoek de concept-begroting voor het komende dienstjaar op een schoolbord schreef, een beetje verward was dan wel eens zijn toelichting, maar wat uiteindelijk wel begrepen werd was het bedrag van de subsidie, die hij van het bloembollenvak gaarne tegemoet zag en... die hem gaarne werd gegeven!

Naast een man van de wetenschap, die als zodanig nationaal en internationaal erkend werd, was Prof. VAN SLOGTEREN een diplomaat!

Hij was dit echter niet alleen in de omgang met de vakgenoten maar ook als deze hun belangen bedreigd zagen door fytosanitaire maatregelen in het buitenland. Dan wist hij met zijn groot gezag, zijn onbetwiste deskundigheid, maar óók door zijn persoonlijke eigenschappen vertrouwen te wekken en ongemotiveerde maatregelen te voorkomen of deze weer te doen opheffen. Maar daarnaast hamerde hij het hier steeds weer zowel de kwekers als de exporteurs in, dat de hoogste kwaliteit de beste vorm van onpersoonlijke reclame is, omdat de tevredenheid van de uiteindelijke gebruiker van het produkt tenslotte beslissend is voor de vraag naar dit produkt en voor de prijs, die men er voor wil betalen.

Het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, waarvan de naam reeds aangeeft dat hier onderzoek in de ruimste zin van het woord bedreven wordt, is tot een instelling geworden, die, voor het bloembollenbedrijf onmisbaar, daarnaast wel in zeer belangrijke mate heeft bijgedragen tot de goodwill van de Nederlandse bloembollenteelt in geheel de wereld. En dat dit zo is dankt het bloembollenbedrijf, de praktijk, wel op de eerste plaats aan de man, die in de boven reeds aangehaalde voordracht als zijn mening gaf: „Er is maar één wetenschap en ook maar één motief voor de wetenschappelijke onderzoeker d.i. de wetenschappelijke emotie, die hem dwingt te zoeken naar de waarheid. Dat dit doel nimmer zal worden bereikt, beseffen wij allen, maar ook hier geldt het advies van Willem de Zwijger: „Nul n'est besoin d'espérer pour entreprendre, ni de vaincre pour persévérer". Prof. VAN SLOGTEREN heeft „ondernomen" en heeft „volhard"!

En al zijn dan, zoals hij dit zelf heeft gezegd, de materiële waarden van de resultaten van het onderzoek voor de onderzoeker niet van essentiële betekenis, dan waardeert „de praktijk" hem om deze uitspraak des te meer, maar wil toch zeker ook aan de materiële waarden van de resultaten niet gaarne voorbijgaan. Daarvoor is zij „praktijk"! En al is dan de overwinning tot „de" waarheid niet mogelijk, door zijn volharding heeft hij gewonnen het respect, de waardering, de genegenheid van allen, die „de praktijk" uitmaken en wier tolk ik gaarne heb willen zijn.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 346–349

PROFESSOR VAN SLOGTEREN EN DE BLOEMBOLLENEXPORT

DOOR

DR. A. J. VERHAGE

Voorzitter van het Produktschap voor Siergewassen

Wanneer men zich ertoe zet om de betekenis van het werk van Prof. Dr. EGBERTUS VAN SLOGTEREN voor de export van de bloembollen te schilderen staat men, wanneer men dit in een kort artikel wil doen, voor een bijkans onmogelijke taak. De aftredende directeur van het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek zal, toen hij zijn werk in 1917 zeer klein begon, zelf onmogelijk hebben kunnen vermoeden, dat een schets van de betekenis van zijn werk voor het bloembollenvak en daarmede voor de welvaart van ons land niet zou kunnen geschieden in een tijdschrift-artikel, maar dat aan het einde van zijn loopbaan hiervoor een nauwkeurige studie nodig zou zijn.

VAN SLOGTEREN stond in 1917 voor een taak, die zeer concreet was. Het aaltjesziek in de narcissen, het oudziek en geelziek in de hyacinten waren dermate nadelig voor de cultuur, dat hieraan zijn volle aandacht moest worden gegeven. Hij heeft zich ook als praktisch man direct geheel aan de bestrijding van deze ziekten gewijd en de warmwaterbehandeling, zowel als het z.g. heetstoken van de hyacinten dateren reeds uit de eerste jaren van zijn onderzoekingswerk. Toen eenmaal het middel om deze voor de bloembollencultuur en de bloembollenexport zo schadelijke ziekten te bestrijden was gevonden, ging hij allerminst op zijn lauweren rusten. Hij gaf alle hulp om de praktische uitvoering van de bestrijding te regelen. De oprichting van de keuringsdiensten gaf het middel voor de ziektebestrijding in de praktijk aan en het waren de energie en het doorzettingsvermogen van VAN SLOGTEREN, die maakten dat het volle vertrouwen van de praktijk werd gewonnen.

In de eerste jaren kwamen reeds de lijnen naar voren, langs welke VAN SLOGTEREN in zijn verdere loopbaan zou werken. Een gedegen onderzoek, waarvan de resultaten niet beschikbaar werden gesteld vóór het onderzoek werkelijk was afgelopen en zekerheid over de juistheid was verkregen, heeft toen en later steeds de grondslag gevormd voor zijn werk. Wanneer de oplossing eenmaal was gevonden moest op een volkomen te verantwoorden wijze de toepassing in de praktijk en de controle daarop worden geregeld. Hierbij ging VAN SLOGTEREN voor niemand opzij; hij gaf aan wat nodig was en belangenkwesties speelden bij hem geen rol. Deze opvatting, en ook de wijze van argumenteren wanneer hij „neen" moest zeggen, maakten dat hij het volledige vertrouwen won van de praktijkmensen, die vooral in de aanvang nog wat argwanend tegen een „bloembollendokter" aankeken. Maar wanneer de bestrijdingsmethode goed was en op de juiste wijze in de praktijk werd toegepast, dan was VAN SLOGTEREN ook bereid om internationaal in congressen en individuele gesprekken de belangen van de bloembollenexport, in verband met fytosanitaire voorschriften, te verdedigen. Hij zou dit niet hebben gedaan, wanneer er aan de werkelijke bestrijding iets had gemankeerd en daarom bleef hij een wakend oog ook op de uitvoering der maatregelen houden. Zijn adviseurschap van de eerste en de later opgerichte keurings-

diensten stelden hem hiertoe in staat, terwijl de wijze waarop hij als wetenschappelijk man kwekers en exporteurs tegemoet trad, ook in die kringen een groot vertrouwen in zijn oordeel wekte.

Zonder enige twijfel zal in dit tijdschrift door meer deskundigen dan de schrijver van dit artikel de betekenis van zijn wetenschappelijke werk naar voren worden gebracht. Van mijn zijde zou ik er de nadruk op willen leggen, dat de praktische betekenis van zijn werk zo groot is, omdat hier een man de leiding nam, die niet alleen wetenschappelijk op een hoog niveau stond, maar die als man met een zeer integer karakter, die bovendien bereid was om wat hij als juist zag in alle kringen met hartstocht te verdedigen, ook het vertrouwen wist te verwerven dat voor de betekenis van zijn werk voor de praktijk zo uiterst belangrijk is. Dit vertrouwen geniet hij niet alleen bij de kwekers en exporteurs in de bloembollenwereld, maar ook bij zijn buitenlandse collega's en bij de directeuren van de Plantenziektenkundige Diensten aldaar, omdat hij het woord „schipperen" niet kent. Wanneer VAN SLOGTEREN iets zegt wordt dit nimmer beschouwd als een bewering, maar men weet, dat hij iets verkondigt waaraan hij niet twijfelt.

In het latere werk van VAN SLOGTEREN heeft zich ten aanzien van deze grondslag niets gewijzigd. Toen hij naar voren begon te brengen, van welk een betekenis de bestrijding van de virusziekten voor onze cultures en voor onze export is, heeft hij langs dezelfde lijnen gewerkt. Het begin van het stelselmatig onderzoek naar de virusziekten viel reeds in 1929. In de praktijk werden virusziekten nog niet als een vraagstuk van gevaarlijke betekenis onderkend. Ik herinner mij nog, hoe ik in het midden van de jaren dertig besprekingen mocht meemaken, waarin vooraanstaande kwekers twijfelachtig stonden tegenover de vraag, of het laboratorium zich zo diepgaand met het onderzoek van de virusziekten zou bemoeien. VAN SLOGTEREN onderkende echter het gevaar; hij wist de praktijkmensen er van te overtuigen, dat het onderzoek zeer ernstig moest worden aangevat en heeft toen, in samenwerking met anderen, zijn belangrijke werk voor de herkenning en bestrijding ter hand genomen. Hij ontmoette veel tegenstand op zijn weg en ook kwakzalvers, die de kwekers voorspiegelden dat er veel gemakkelijker bestrijdingswijzen zouden zijn dan de selectie. Hoewel het somtijds leek, alsof VAN SLOGTEREN hierdoor was terneergeslagen, was dit juist een aansporing voor hem om door te gaan. Zijn belangrijke werk op dit gebied behoef ik niet te schilderen, maar wie het moeilijke pad dat hij is gegaan van zo nabij heeft gekend, heeft des te groter waardering voor dit werk, dat voor de bloembollencultuur en voor anderen van onschatbare betekenis is.

Met enkele voorbeelden heb ik getracht te schetsen waarom het werk van VAN SLOGTEREN voor de bloembollencultuur zo uiterst belangrijk is. Er zijn echter voor de praktijkmensen meer kanten aan zijn werk, die nog meer spectaculair zijn. Ik denk hierbij met name aan zijn strijd tegen de onjuiste invoerbelemmeringen die onze narcissen in de Verenigde Staten van Amerika ondervonden en aan zijn onderzoekingen met betrekking tot de „mijt", die, als gevolg van de Duitse wetgeving, eveneens een belemmering voor onze export vormde. VAN SLOGTEREN heeft de strijd ten aanzien van deze twee punten, die voor de omvang van onze export zo uitermate belangrijk zijn, jarenlang moeten voeren. Eerst in 1957 zijn de bepalingen ten aanzien van bloembollen waarop mijten voorkomen in Duitsland gewijzigd, wat uiterst belangrijk is, omdat de Duitse wetgeving met betrekking tot de ziektebestrijding een voorbeeld is voor verscheidene landen op het continent. Het resultaat is – dit mogen wij nu wel constateren – dus groot

geweest, maar de strijd tegen onjuiste maatregelen heeft VAN SLOGTEREN alleen kunnen winnen, doordat hij contact hield met de praktijk, zonder zich door direct belanghebbenden te laten beïnvloeden, en daardoor groot aanzien en vertrouwen verkreeg bij diegenen die aan de andere zijde van de grens deze maatregelen moesten beoordelen. Alleen een man die een uitnemend wetenschappelijk werker is en bovendien deze karaktereigenschappen heeft, kon dit bereiken.

Naast zijn werk in Nederland, dat voor een belangrijk deel in het laboratorium lag, maar waarbij toch ook veel aandacht moest worden gegeven aan het contact met de praktijk en de uitvoering van de bestrijdingsvoorschriften, heeft VAN SLOGTEREN ook veel moeten doen op internationaal niveau. Voor een gedeelte heeft dit werk gelegen op het terrein van het bespreken van concrete moeilijkheden, waaruit vaak gezamenlijk opgezette onderzoekingen zijn voortgevloeid. Maar dit internationale werk culmineerde naar mijn gevoelen toch in wat hij heeft gedaan in internationale planteziektenkundige congressen. Deze met name gaven hem gelegenheid om te strijden voor aanvaarding van het principe van het „redelijk vrij zijn van planteziekten", welk uitgangspunt noodzakelijk is, niet alleen om onjuiste sanitaire maatregelen en embargo's van afnemerslanden te voorkomen, maar ook om te bereiken, dat uit het gezichtspunt van de fytopathologen het internationaal verkeer van goederen slechts daar wordt belemmerd, waar dit noodzakelijk is. VAN SLOGTEREN heeft zich voor deze congressen altijd nauwkeurig voorbereid. In een leven van hard werken is hij er in geslaagd de problemen te onderkennen en de oplossing van die problemen met grote overtuigingskracht zo aan te bevelen, dat het zo noodzakelijke werk van de fytopathologen de internationale goederenruil niet onnodig belemmert. Hieruit blijkt, dat VAN SLOGTEREN meer is dan een specialist. Een specialist heeft de neiging om zijn eigen werk als doel te gaan stellen, met alle gevaren daarvan voor de gemeenschap. Wanneer een specialist erin slaagt om zijn werk zodanig op te vatten, dat het past in het raam van het economische en politieke geheel, dan geeft hij blijk van een brede visie. Het is de eerste maal, dat ik mij op zó'n lovende wijze over VAN SLOGTEREN uitlaat, maar ik geloof, dat het juist bij deze gelegenheid past om de grote verdiensten van VAN SLOGTEREN, niet alleen als wetenschappelijk onderzoeker, maar ook als man van uitnemend karakter en brede visie, te schetsen.

VAN SLOGTEREN heeft niet alleen aandacht gegeven aan fytosanitaire problemen. In zijn werk heeft hij steeds uitgedragen, dat het belangrijkste voor het bloembollenvak is, dat een goed produkt wordt geleverd en dat slechts een gezond en kwalitalief uitnemend produkt de wereld kan veroveren. Ook hiermede is hij reeds vroeg begonnen. Toen hij nog jong het werk van de kweker NICOLAAS DAMES, die in 1920 overleed, leerde kennen, besefte hij, dat de ontwikkeling en popularisering van behandelingsmethoden om de bloeiperiode te verschuiven, voor de goede kwaliteit en de afzet van bloembollen van primair belang was. Dit heeft hem gestimuleerd om de geheimen van de periodiciteit bij de knopontwikkeling van tulpen en narcissen te ontsluieren en behandelingsmethoden te vinden om de bloei weken en maanden te vervroegen. Wanneer men aan dit werk van VAN SLOGTEREN herinnert, denkt de praktijkman direct aan de narcissen, die door droogkoeling nu reeds in november/december in de kas tot bloei kunnen worden gebracht, hetgeen voordien eerst in februari/maart mogelijk was. In dit verband moet ook aangeduid worden de grote betekenis van

zijn onderzoek voor een verdere ontwikkeling van de export van bloembollen naar landen op het zuidelijk halfrond. Dit kan op een langere termijn bezien zeer tot de bloei van het bloembollenvak bijdragen. Een „stokpaardje" is hieruit voortgevloeid, nl. het steeds weer hameren op een juist gekozen verschepingsdatum. Wanneer ik hier wat schertsend het woord „stokpaardje" gebruik, is dat niet omdat de mening van VAN SLOGTEREN op grond van zijn onderzoekingen door mij als onjuist wordt gezien; het tegendeel is waar. Wel zal bij de toepassing hiervan ook met andere vraagstukken, die zich op ander gebied in de praktijk voordoen, rekening moeten worden gehouden en met name met de lengte van het verkoopseizoen. Het woord „stokpaardje" gebruik ik alleen om zo goed mogelijk weer te geven, hoe ook nu nog VAN SLOGTEREN bij iedere voorkomende gelegenheid te praktijkman tracht te doordringen van de belangrijkheid van de oplossing van dit vraagstuk.

Ik heb niet getracht het werk van VAN SLOGTEREN in zijn volle omvang weer te geven, ook al omdat dit een econoom slecht zou passen. Ik weet, dat ik ook veel buiten beschouwing heb gelaten, b.v. de kraamverbetering in de irissen- en leliecultuur. Het is ook niet mijn bedoeling geweest een volledig overzicht te geven van het vele dat VAN SLOGTEREN in zijn ambtsperiode heeft gedaan en bereikt. Bovendien heb ik geen woord gezegd over de hoge onderscheidingen die hem, als blijk van Hoge en openbare waardering, zijn ten deel gevallen. Wat ik alleen trachtte te schilderen is, dat VAN SLOGTEREN's werk voor de bloembollencultuur van zo'n enorm belang is, omdat hij een ernstig wetenschappelijk onderzoeker is en daarnaast een man op wie men volkomen aan kan en die zijn eigen problemen in breder verband weet te zien. Deze combinatie heeft ertoe geleid, dat het werk van VAN SLOGTEREN, die in 1917 de ziekteproblemen in de bloembollenstreek begon te bestuderen, van zo grote betekenis voor de ontwikkeling van deze cultuur in de laatste veertig jaren is geweest.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 350–353

PROFESSOR VAN SLOGTEREN EN HET LABORATORIUM VOOR BLOEMBOLLENONDERZOEK

DOOR

DR. J. J. BEIJER

Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse

Feitelijk is het opschrift niet geheel juist, immers VAN SLOGTEREN en het laboratorium of zo men wil het laboratorium en VAN SLOGTEREN vormen een eenheid; het laboratorium dat *is:* VAN SLOGTEREN.

Een dergelijke eenheid kan alleen ontstaan, als het een uit het ander is voortgekomen, zoals in dit geval het laboratorium in Lisse geleidelijk door VAN SLOGTEREN al naar de eisen van het wetenschappelijk onderzoek is ontworpen, gebouwd, uitgebreid en van de nodige inventaris voorzien.

Recht tegenover zijn plaats aan zijn werktafel in het „voorlaboratorium" hangt hoog aan de muur, iets vooroverhangend, een luchtfoto van het gehele laboratoriumcomplex, compleet met infectieakker, grondverwarming, koude en verwarmde kassen, personeelswoningen, enz. Vermoedelijk zal, vooral in de laatste maanden, zijn blik wel eens wat langer zijn blijven hangen aan deze overzichtsfoto en onwillekeurig zullen zijn gedachten zijn teruggegaan naar de verschillende ontwikkelingsfasen, die het tot stand komen van dit gebouwencomplex hebben gekenmerkt.

Het was een lange weg van een kamertje in de Tuinbouwschool naar het zeer modern uitgeruste Laboratorium voor Bloembollenonderzoek met een uitgebreide wetenschappelijke staf en technisch personeel. Er zijn dan ook 40 jaren mee gemoeid geweest, jaren, waarin zich op velerlei gebied een stormachtige technische ontwikkeling heeft voltrokken. Steeds echter heeft VAN SLOGTEREN er naar gestreefd zijn laboratorium met de meest moderne installaties uit te rusten. Dit was alleen mogelijk, door zich voortdurend weer op de hoogte te stellen van al datgene, wat op technisch gebied in binnen- en buitenland naar voren werd gebracht; geen jaarbeurs werd overgeslagen, geen demonstratie gemist.

Daarbij bleek hij bij de opbouw en de inrichting van het laboratorium over een ver vooruitziende blik te beschikken. Hoe dikwijls leek niet bij het ontwerpen van een nieuw gebouw of het inrichten van een nieuwe afdeling de opzet aan de wel heel ruime kant te zijn. Maar steeds weer bleek reeds na enkele jaren de opzet volledig aan het doel te beantwoorden en niet zelden trad spoedig daarna zelfs weer enig ruimtegebrek op.

Zo is het huidige laboratoriumcomplex geleidelijk ontstaan. Er was hier geen sprake van het neerzetten van een modern ingericht gebouw, met het doel pas daarna te zien hoe dit instrument voor de praktijk zou kunnen worden gebruikt. Integendeel, een in de praktijk begonnen onderzoek noopte stap voor stap, al naar de ontwikkeling ervan dit meebracht, tot aanschaffing van de voor iedere fase noodzakelijke uitrusting.

Zo was het eerste in 1922 opgerichte laboratorium vooral berekend op warmwater-behandeling en hetelucht-behandeling van bloembollen, in verband met de proeven over aaltjesziekten en het geelziek der hyacinten.

Na de brand in 1928 werd bij de uitbreiding vooral aandacht besteed aan

klimaatcellen voor hoge en lage temperaturen, o.a. voor de bestudering van de preparatiemethoden van hyacinten, tulpen en narcissen.

De geheel andere eisen, die het serologisch onderzoek der virusziekten van ongeveer 1938 af naar voren brachten, gaven in 1947 de stoot tot de bouw van laboratorium II, waarin een konijnenstal met werkruimten zo werden ingericht, dat eventueel later een groter deel tot onderzoekruimte zou kunnen worden verbouwd. Dit is dan ook enige jaren later gebeurd, toen o.a. aparte afdelingen voor centrifuges, ultracentrifuges, elektroforese-apparatuur en voor een elektronenmicroscoop werden ingericht.

Nog was aan de ruimtebehoefte voor het zo belangrijke en veeleisende virusonderzoek niet in alle opzichten voldaan. Geïsoleerde infectiegelegenheid, tegen zomerhitte beschermde luisvrije kassen met koeling vroegen om dringende voorziening. Toen ook uitbreiding met grotere bewaarruimte voor bollen bij lagere en hogere temperaturen wenselijk bleek en er bij VAN SLOGTEREN reeds toekomstplannen waren voor wetenschappelijk onderzoek in meer fysiologische en biochemische richting, is hij er in geslaagd door het ontwerpen en laten bouwen van een groot opgezet derde laboratorium de grondslag te leggen voor een sterke verbreding van het wetenschappelijk onderzoek.

Het leek in het begin wat leeg, dat grote gebouw met zijn 22 vertrekken en 24 kasafdelingen, maar thans, ongeveer acht jaren later, heeft de vergrote wetenschappelijke staf er geen hoekje meer van onbezet gelaten.

Hoe belangrijk een uitstekende outillage en een goede personeelsuitrusting voor een onderzoekinstituut ook zijn, voor een internationaal georiënteerde cultuur als de bollenteelt is er nog een andere zeer belangrijke factor, waaraan aandacht moet worden besteed, nl. het contact naar buiten. VAN SLOGTEREN heeft daar steeds een open oog voor gehad en is nog steeds van mening, dat dit contact niet beter tot stand gebracht kan worden, dan door het betonen van „gastvrijheid" in de ruimste zin van het woord. „The best host of Europe" heeft een bezoeker hem eens genoemd en daar was reden voor. Een gastheer, die een Amerikaanse gast als het ware op bestelling een nachtegaal laat horen, heeft wel recht op deze titel!

Naast de meer particuliere gastvrijheid heeft hij er bij de bouw der laboratoriumgebouwen steeds rekening mee gehouden, dat er ruimten voor het ontvangen van bezoekers, voor excursies, voor vergaderingen en demonstraties aanwezig moesten zijn. Lang heeft een verbouwde garage als hoofdvergaderzaaltje dienst gedaan maar in 1952 werd tenslotte door het Centraal Bloembollencomité een vergaderzaal met aparte demonstratieruimte gebouwd tezamen met een nieuw kassencomplex, dat als representatief voor het wetenschappelijke onderzoek in de bollenstreek kon gelden. De toenmalige voorzitter van de Wetenschappelijke Commissie noemde dit vierde gebouw een „waardig visitekaartje" voor het vak.

De demonstratiezaal diende in de eerste plaats voor het demonstreren van broeiproeven of ander materiaal. Er was echter nog een bijzondere reden waarom VAN SLOGTEREN zo'n voorstander van deze demonstratiezaal was. De grote gastvrijheid door hem tegenover iedereen betoond begon een zeer ernstige moeilijkheid op te leveren in de vorm van een „bezoekersprobleem". Het leiden van de vooral tijdens de bloei der bollenvelden talrijke bezoekers door de verschillende werkvertrekken begon het onderzoek dermate op te houden, dat daartegen maatregelen genomen moesten worden. Vandaar de bouw van deze de-

monstratiezaal, vooral bestemd om massabezoek, zoals excursies, op te vangen.

Als symbool der gastvrijheid ligt op deze zaal het „gastenboek", thans met ongeveer acht en een half duizend namen van bezoekers. Het doorbladeren van dit boek geeft een indrukwekkende reeks namen te zien van personen, waarmee soms zeer belangrijke contacten tot stand zijn gekomen. Misschien dat VAN SLOGTEREN nog met het meeste plezier de namen zal herlezen van enkele zeer bekende buitenlandse onderzoekers, die zich aanmeldden met de mededeling dat ze slechts een twintigtal minuten tijd hadden, maar na een hele middag gebleven te zijn hun spijt betuigden niet langer te kunnen blijven, of een nieuwe afspraak maakten.

Het is geen wonder, dat de bijna technisch volmaakte uitrusting van zijn laboratorium door collega's in binnen en buitenland wel eens met enige afgunst werd gadegeslagen. Het was toch maar gemakkelijk niet in alles van rijksgelden afhankelijk te moeten zijn, maar te kunnen beschikken over de grote subsidies van het bloembollenvak! Men vergeet dan echter, dat VAN SLOGTEREN in 1917 als fytopatholoog in 's rijks dienst zonder enige praktijksteun zijn taak is begonnen en daarbij veel vooroordelen heeft moeten overwinnen. Doch reeds vijf jaar later, in 1922, kon dank zij de steun van de praktijk, het eerste laboratorium worden geopend. En deze steun was hem niet zo maar in de schoot gevallen, integendeel, daar heeft hij hard voor moeten werken en vechten! Dat dit laboratorium met vrijwel de gehele kostbare inventaris in februari 1928 door brand werd verwoest, was dan ook een grote ramp. Maar, zoals Mr. E. A. BOWLES later in het Daffodil Yearbook van 1938 schreef: een nieuw laboratorium „arose Phoenixlike from the embers of the great fire that destroyed the old one".

Zoals meermalen naar voren is gebracht, is VAN SLOGTEREN een strijdbare figuur, die er niet tegen op ziet, telkens als hij het nodig acht, zijn volle persoon in te zetten ter verkrijging van betere voorwaarden voor het wetenschappelijk onderzoek. Voor elke belangrijke uitbreiding, voor elke personeelsvermeerdering, voor elke jaarbegroting, moest met de vakorganisaties worden onderhandeld, zodat een vooraanstaand vakman zich tijdens zo'n bespreking eens liet ontvallen: „Professor, U bent de beste bedelaar in de bollenstreek".

Het spreekt vanzelf, dat de groei van het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek niet altijd ongestoord voortgang heeft gevonden. Natuurlijk waren er tegenslagen, zoals de economische depressie van 1930 en de tweede wereldoorlog, waarin het werk zo goed en zo kwaad als het ging voortgang vond. De gebouwen en de inventaris bleven gespaard, zodat deze gebeurtenis geen rampzalige gevolgen had. Integendeel, zijn in mei 1945 in de vakbladen geuite oproep „En nu... voorwaarts" was de inleiding tot een zeer sterke opbloei van het wetenschappelijk onderzoek in de bollenstreek.

Een voor VAN SLOGTEREN blijvend persoonlijk verlies was het plotseling overlijden in september 1953 van zijn oudste medewerker, de heer J. D. BAKKER. Deze autodidact, afkomstig uit het bollenvak, was als het ware een technisch fenomeen. Elke proefopzet, elk ontwerp, elk idee van VAN SLOGTEREN werd door BAKKER met volkomen begrip voor de juiste bedoeling, met overgave uitgewerkt en technisch verwezenlijkt. Deze plotselinge verbreking van een meer dan dertig jarige samenwerking moet wel een grote leegte hebben achtergelaten.

Na al hetgeen hierboven over het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek naar voren is gebracht zal het de lezer misschien wonderlijk in de oren klinken te vernemen, dat VAN SLOGTEREN als één van de redenen van zijn succes in de

bloembollenstreek het feit naar voren pleegt te brengen, dat hij bij zijn komst aldaar... niet over een laboratorium kon beschikken. Door het ontbreken van elk instrumentarium en bibliotheek was er geen mogelijkheid de problemen van uit een bureaustoel te gaan aanpakken. De enige weg was „er op uit te gaan", de praktijk in, naar bollen te kijken, met bollenmensen te praten en vooral... van hen te leren. Er is niets wat een praktijkman meer afschrikt dan geleerdheid, maar zodra hij het gevoel heeft, dat zijn eigen, soms gedurende vele generaties ontstane praktijkkennis au serieux wordt genomen, is hij bereid deze aan nieuwe opvattingen te toetsen en stelt hij gaarne geld en bollen ter beschikking voor nader onderzoek. Dat op deze wijze toegepaste wetenschap tot grote bloei kan worden gebracht heeft VAN SLOGTEREN wel overduidelijk weten aan te tonen.

Hoe hoog hij in dit verband de praktijkkennis van de werkelijke vakman weet aan te slaan, is wel het best gebleken in 1932 bij de oprichting van het monument ter nagedachtenis van de geniale kweker NICOLAAS DAMES (1862–1920). Niet alleen, dat dit een plaats vond in het gazon vóór het laboratorium, maar in de rede door VAN SLOGTEREN bij de onthulling uitgesproken, toonde hij ondubbelzinnig zijn grote waardering voor in de praktijk verworven kennis in het algemeen en voor die van de heer DAMES in het bijzonder.

Ten slotte nog een enkel woord over de naam van zijn schepping. De naam „Laboratorium voor Bloembollenonderzoek" is als zodanig nu volledig ingeburgerd. Ieder, die het laboratorium heeft bezocht, zal dit vanzelfsprekend vinden daar naast vele fytopathologische problemen ook vele onderzoekingen op het gebied der bolbehandelingsmethoden der fysiologie en der biochemie worden verricht. Toch is over deze naam in het begin van de werkzaamheid van VAN SLOGTEREN veel te doen geweest.

Oorspronkelijk was zijn taak zuiver fytopathologisch, hetgeen ook in zijn benoeming tot fytopatholoog tot uiting was gekomen. Al heel vroeg echter heeft hij met klem het standpunt verdedigd, dat het niet mogelijk is de zieke bloembol te bestuderen zonder het gezonde produkt grondig te kennen. Vooral de afhankelijkheid van vele ziekteverschijnselen van de soms zeer ingrijpende behandelingsmethoden der droge bollen tijdens de bewaarperiode in de zomer, alsook van de verschillende milieufactoren in de uiteenlopende afzetgebieden, maken het noodzakelijk al deze factoren aan normaal, gezond materiaal te bestuderen.

VAN SLOGTEREN heeft zich steeds op het standpunt gesteld, dat voor een zo technisch gespecialiseerde teelt als de bloembollencultuur nu eenmaal is, het wetenschappelijk onderzoek gecentraliseerd moet plaats vinden in één instituut, gelegen in het centrum van deze cultuur. Vandaar, dat zijn streven er van den beginne af aan op gericht was dit te belichamen in het „Laboratorium voor Bloembollenonderzoek" te Lisse. De roep, die dit laboratorium in de ruim 40 jaren van zijn bestaan zowel in binnen- als buitenland heeft verkregen, toont aan, dat VAN SLOGTEREN in dit streven volledig is geslaagd.

Op zijn medewerkers rust nu de zware, maar eervolle taak tezamen met zijn opvolger de goede naam van dit laboratorium te handhaven en het blijvend te doen beantwoorden aan het doel, waarvoor zijn oprichter het heeft bestemd, namelijk om *voor* en *met* de praktijk het wetenschappelijk onderzoek te dienen ten behoeve van de Nederlandse bloembollencultuur.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 354–356

INTERNATIONALISM IN PLANT PATHOLOGY

BY

E. C. STAKMAN

The idea of internationalism is not new, although we sometimes like to think it is. From early days of tribalism and through many centuries of nationalism different peoples have been curious about each other or have wanted something from each other. And therefore they either visited each other just to exchange visits or to exchange goods. Mutuality of interest and community of objective often led to more or less formal association for specific purposes and for limited time. The idea of trade agreements and alliances to attain common ends goes back to remote antiquity. Cultural exchange also started early. The Olympic Games between the Greek city states included not only athletic contests but also competitions, presumably friendly, in science, literature, and the arts. Unfortunately, however, what started as friendly competition often degenerated into bitter contention, a phenomenon which is not unknown today.

Botanists were among the pioneers in scientific interchange in modern times. Four centuries ago when botany was reviving, the herbalists became curious about the plants in other countries; therefore they exchanged specimens and established reference herbaria. Botanists had certain advantages over zoologists, because plants were easier to preserve. It is true that entomologists learned to impale insects on pins, but even this was more difficult in some respects than pasting plants on paper. Nevertheless, the fathers of botany deserve some credit for trying to internationalize their science.

As various sciences, scientific societies, scientific meetings and scientific publications developed, exchange of scientific facts and ideas was greatly facilitated. Gradually more and more international societies were organized and more and more international meetings were held. Finally, the international societies agglomerated into international unions and then attemps were made to unite the unions. These were worthy efforts, for many of them have promoted the cause of science and some of them have rendered direct or indirect service to society. Nevertheless, the machinery for rendering international social service by important deeds often has been so weak or so cumbersome that many good intentions and elaborate plans have remained in the minds and on the drawing boards where they were drafted. And yet, international cooperation is more desirable than international contention, and in some cases it is essential to general progress and to the solution of specific problems.

In the field of plant pathology international cooperation is always desirable and sometimes essential, because many pests and pathogens are quite as international as scientists themselves. As disease problems are international in scope, so must the fight against them be international in scope. The needs are clear; the ways of meeting them are not always equally clear.

There can be no pathologic isolationism as long as wind and man exist. Windborne pathogens such as the cereal rusts, various kinds of mildews, Phytophthora of potato, and numerous others are international problems, and international cooperation is needed to understand their ways and to reduce their ravages.

Wind may carry inoculum of many pathogens across many national boundaries, sometimes carrying new pathogens or physiologic races of old ones to new homes where they may intensify old problems and create new ones. Man, too, continually creates new problems for himself by distributing pathogens far and wide with propagative parts of plants. Despite quarantines and other restrictive measures, man will continue to distribute pathogens unless he can devise better ways to protect himself than in the past.

To state the problem of migratory pathogens is easy; to devise concrete and feasible measures for solving it is harder. It is obvious, however, that there are several requisites: 1. precise identification of pathogens and their physiologic races; 2. knowledge about their persistence and dissemination; 3. methods for detection on or in plants and plant parts; 4. wise regulation based on knowledge; 5. ethical conduct in international trade. The problem involves both pathogens and people. Any successful international undertaking, legal or otherwise, requires intelligence, good faith, and a simple and feasible system of procedures.

A good system is one that works, that attains its objectives. Some of the international attempts to do things, instead of merely talking about them, were too broad and visionary. It probably is better to concentrate on concrete objectives and gradually evolve toward more general ones. For attitudes and plans will develop as needs and opportunities appear.

It can hardly be inappropriate to pay tribute here to the direct contributions that Holland has made toward international cooperation. To give only three examples does not mean that there were not many more. But these three are especially pertinent to the present discussion, because they illustrate the value of international services in the identification, the dissemination, and the detection of plant pathogens.

Who has not heard of the Centraal Bureau voor Schimmelcultures at Baarn in Holland, and who, among plant pathologists, has not utilized its resources when there was need to identify or compare living cultures of fungus pathogens? Is there anyone, seriously engaged in the study of the identity of fungus pathogens, who does not realize that this Centraalbureau was organized and maintained by the vision and the talented devotion of Dr. JOHANNA WESTERDIJK, justly famous throughout the world for her services to international plant pathology? Various kinds of contributions from many countries have helped make the Bureau internationally important, but the determining factors have been the enterprise of the Directrice and the confidence that all have had in her and in the country where the Bureau has its home.

"As rust diseases in general are not bounded by frontiers, it is our opinion that we can solve the problems – posed for us by yellow rust – only if we cooperate on an international scale. Therefore we did not limit the yellow rust trials to the Netherlands, but we asked for, and obtained the collaboration of many interested people throughout Europe." This quotation from News-letter No. 1, July 1st, 1957, of the Netherlands Graan-Centrum expresses clearly the need for international study of such fungi as *Puccinia glumarum*. The real contribution, however, is in effecting an organization to meet the need. This has been done, and Holland deserves much credit, as do also the other cooperating countries.

Thus the international testing of wheat varieties against yellow rust was begun

and is being continued. At the First European Yellow Rust Conference, held at Brunswick, Germany, in February, 1956, the following agreements were made.

"1. The determination of the physiologic races of yellow rust will be done for Europe at a central point, in this case the "Institut für Physiologische Botanik" of the Biologische Bundesanstalt at Brunswick (Germany), which has long experience in this work and is well equipped for that purpose.

2. The multiplication of the seeds of the test-varieties used for the determination of the physiologic races of yellow rust will be done also at a central point, in this case the "MAX-PLANCK-Institut für Züchtungsforschung" at Köln-Vogelsang (Germany).

3. Data concerning the yellow rust resistance of wheat varieties and breeding parents will be exchanged internationally.

4. Certain scales to be used for defining stage of development of wheat and the prevalence and severity of rust."

This is indeed progress toward effective internationalism.

It is especially appropriate to pay tribute in this van SLOGTEREN number to the manifold and long-continued contributions of this pre-eminent apostle of internationalism in plant pathology. VAN SLOGTEREN broadened, deepened, and liberalized concepts about international cooperation. At the International Plant Science Congress, in 1926, VAN SLOGTEREN made such a good speech on international cooperation in scientific research that he was made chairman of an international committee to study the biological basis of plant quarantines. He also gave addresses before the phytopathological section of the VI International Botanical Congress in 1935 and the VII Congress in 1950. VAN SLOGTEREN says in his 1950 address that „international phytopathological cooperation had perhaps aimed too much at „bug hunting" and at plant protection by legislative measures and plant quarantines". He always stressed the fact that quarantines must be scientifically sound, reasonable, and fair to exporting and importing countries alike. His efforts did much to bring the question of plant quarantines into proper perspective and to broaden the scope of international cooperation.

There is, of course, a dilemma in the question of quarantines. International exchange of plants and plant products is desirable, and often necessary; but there is danger of thereby distributing pests and pathogens also. And nationalistic quarantines have not always been sensible and ethical; consequently they sometimes promoted international friction rather than cooperation. VAN SLOGTEREN'S solution was this: Use quarantines sensibly and honestly; do not do to any country that which you would not wish that country to do to you. Quarantine controversies, in VAN SLOGTEREN'S view, become less numerous and bitter if the need for quarantines can be reduced by a reliable international reporting service on the distribution and importance of diseases; by devising better control measures, by international effort; by producing and guaranteeing disease-free plant materials for international trade.

That VAN SLOGTEREN made notable contributions, not only by words but also by deeds, to all these phases of a complex and vital problem is on the record. The man himself and the Laboratorium voor Bloembollenonderzoek at Lisse are embodiments of friendly and effective internationalism in plant pathology. They have taught us much about many things. May they have their reward!

T. Pl.ziekten 64 (1958): 357–360

THE BIOLOGICAL BASIS OF THE PLANT IMPORT LEGISLATION OF ENGLAND AND WALES

BY

W. C. MOORE

Plant Pathology Laboratory, Harpenden

Just thirty years ago in the summer of 1928 a shy young man, bewildered by the strangeness of his first journey outside Great Britain, stepped from a train at Haarlem. Here he was met by Prof. VAN SLOGTEREN, who not only put him at his ease long before they reached Lisse but continued to place most of his time for the next week or so at the disposal of his guest, despite the evident signs of a very busy life and the preoccupations consequent on the recent heart-breaking loss of his laboratory by fire. The experience left me with a sense of gratitude and admiration that has never been erased.

My chief interest at that time was in bulb diseases, but coming as I did from the technical headquarters of the English Phytopathological Service at Harpenden, there were naturally other matters of mutual interest to discuss and not least of them the question of plant disease legislation. Prof. VAN SLOGTEREN had already taken an active part in a discussion on this subject during the International Conference of Phytopathology and Economic Entomology held in Wageningen in 1923 (Report, 1923, p. 220) and he was later to return to the topic on at least two occasions (VAN SLOGTEREN, 1929, 1935). Broadly speaking he accepted the right of nations to require that plants and plant products moving in international traffic should be reasonably free from pests and diseases, but insisted that restrictions on free exchange should be on a sound biological basis and that agreements for exclusion or prohibition must be based on purely scientific phytopathological grounds. He was not, of course, the first nor yet the last to put forward general principles of this nature, and it may be an appropriate moment to indicate how one country, and that a mainly importing one, has endeavoured to put them into effect.

At the Wageningen Conference of 1923 the late Sir JOHN FRYER, then Director of the Plant Pathology Laboratory at Harpenden, speaking of the difficulty of defining the extent to which the pathologist should concern himself with economic factors, said (Report, 1923, p. 222): "In England, I think, the solution which would commend itself to most entomologists and pathologists is that they should first endeavour to obtain the fullest knowledge of the economic questions involved in the international trade in plants, and secondly that they should use this knowledge so as to reduce to the smallest possible extent (consistent with reasonable safety) the interference with commerce by plant import regulations. This, at all events, was in the minds of those responsible for drawing up the English regulations now in force, which we earnestly hope will contrive reasonable safety for England with the minimum interference with trade."

The general principles outlined above, and re-emphasized in recent years (MOORE, 1952, 1953) have provided the basis for successive Importation of Plants Orders issued by the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, which have governed the entry of agricultural and horticultural plants and parts of

plants into England and Wales. Changes have been made from time to time in the light of experience and new biological information, and such changes have taken the form of relaxing restrictions no longer thought to be justified or of new restrictions. The Importation of Plants Order 1955 is the latest consolidation of our import regulations.

Under this Order many raw vegetables and fruits as well as practically all kinds of seeds are allowed unrestricted entry into England and Wales. At the other extreme potatoes and a few other plants are prohibited from certain countries or continents. The potato is a vital part of our national economy and the rather stringent measures we impose on its importation are prescribed to prevent the introduction of ring rot (*Corynebacterium sepedonicum*) and a number of important virus diseases not known to occur in the United Kingdom, including spindle tuber and yellow dwarf. The other prohibitions are on imports of annuals, biennials, *Prunus*, *Rubus*, *Fragaria* and *Rosa* from those countries in which there exist dangerous virus diseases unknown in Britain, such as aster yellows, curly top, rose wilt and certain stone fruit virus diseases. Special precautions against cherry fruit fly (*Rhagoletis cerasi*) are taken by excluding raw cherries altogether during the worst danger periods, and admitting them at other times under a guarantee of freedom from larvae of the fly. The only seeds subject to restrictions are those of lettuce, tomato, and pea, which must come from crops free from one named disease. Restrictions on the entry of nursery stocks, bulbs and certain leafy vegetables are designed to meet one or both of two objects. The first is to ensure that the importer is receiving goods which are as healthy as can reasonably be expected. Exporting countries are therefore asked to certify that plants consigned to England and Wales were examined during growth (mainly for virus diseases) and again just before export, and were found on both occasions to be reasonably free from injurious pests and diseases. The second object is to avoid the introduction of Colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata*), San José scale (*Quadraspidiotus perniciosus*) and potato wart disease (*Synchytrium endobioticum*), and this is sought by laying down certain requirements about the place of origin of the plant material. The health certificate asked for is in the form of the model certificate laid down in the F.A.O. International Plant Protection Convention of 1951. It certifies that the consignment is substantially free from injurious pests and diseases, and guarantees conformity with our current phytosanitary regulations.

An important feature of English import legislation is the reliance placed on the goodwill and integrity of the Phytopathological Service in the exporting country. We accept the health certificate in good faith and, unlike many countries, do not carry out a routine examination of all consignments on arrival, though a small percentage of them is regularly inspected as a check on the validity of the certificates issued. Moreover, we do not ask for any additional declaration to be made on the certificate. In general, therefore, our plant import legislation is essentially a compromise designed on the one hand to protect us from certain pests and diseases which we do not have, and on the other to reduce to a minimum the barriers to trade. We realize our good fortune in that, as the British Isles are surrounded by water, we enjoy a natural insulation from many pests and diseases which is denied to countries with land frontiers. But we also recognize that, however worded, health certificates can never provide absolute guarantees, and therefore take the more realistic line that if producers in other

countries wish to develop a long-term trade with us it is their primary duty to do everything in their power to eliminate pests and diseases on their own premises.

Though several years may elapse between one consolidated Importation of Plants Order and the next, the position does not remain static during the interval, and amending legislation may be issued at any time. On the one hand it has become customary to issue annually an amending Order which permits relaxation, usually on an experimental basis, of some of the restrictions on the import of fresh vegetables laid down in the main Order. Such temporary relaxations may become permanent, or may be withdrawn or amended in the light of the experience gained during the experimental period. On the other hand fresh restrictions may be both desirable and fully justified, as for instance in 1956 when it was found that a new bacterial disease (slow wilt) was being repeatedly introduced into England with imported carnation cuttings. The important thing is that relaxations to foster trade are made – even if cautiously – as soon as they can be with reasonable safety to our crops, and new restrictions are not imposed unless they are felt to be justified on biological grounds. One or two examples may suffice to show how we approach the problem of changing conditions.

In the early thirties, when Colorado beetle began to spread rapidly from the Bordeaux area north-westwards through France, the drastic measures that had been taken ten years before to protect our island were intensified, especially after a number of beetles had been found at Tilbury in 1933 (Fryer, 1934). The position became acute when trade was resumed after the 1939–45 War, for by then the beetle had reached other western and southern European countries. There was no evidence that it could cross the Channel by direct flight and it was believed – and confirmed subsequently by Thomas (1952) – that the number of colonies of beetles found in potato fields in this country was correlated with the number of single beetles carried here with imported produce or in other ways. The peak was reached in 1947 when 224 single beetles were detected and 57 colonies of beetles were observed in potato crops. To meet the peril very stringent restrictions had to be placed on the importation of agricultural produce from the Continent from February onwards, and these undoubtedly interfered considerably with normal trade. The story since 1947 has been one of gradual but progressive easement of most of these restrictions, based mainly on the dates of emergence of the beetle from the soil in the various infested countries, on knowledge acquired about the kind of produce most likely to harbour beetles, and above all on the extent to which active control measures are taken in the exporting country. The greatest risk arises with produce from southern Europe where emergence takes place early and the period of dormancy is short. Leafy vegetables are always prone to harbour beetles, but the greatest danger lies with imported lettuce. Accordingly, our general policy has been to maintain strict control over imports of lettuce, to relax somewhat with other leafy vegetables, and to remove restrictions altogether on certain other produce. At the same time the radius requirements originally imposed are gradually being withdrawn in favour of those countries where an intensive system of beetle control is maintained. All this has been made possible largely because of the successful efforts of the European Plant Protection Organization and its parent body, the International Colorado Beetle Committee, to foster both national and international collaboration in fighting the beetle. It is because of the improved position on the Continent and vigilance at home that we are now able to claim that since 1952

no beetle colonies at all have been seen in potato crops in Britain and that the number of single beetles detected each year has fallen below the 50 mark.

Another pest which threatens this country and which it is believed could be very harmful if it obtained a foothold in our orchards is the cherry fruit fly (*Rhagoletis cerasi*). Control over the import of raw cherries has been exercised for over thirty years: until 1954 by a series of special annual Orders and subsequently under the Importation of Plants Order. During most of this period cherries accompanied by a certificate of origin have been allowed unrestricted entry until certain dates, after which they have been prohibited. The prohibition dates were originally selected and later amended in accordance with current information about the date of emergence of the fly in the exporting countries or regions, and in part on the results of check inspection carried out at the port of entry. In 1954 a notable change was made. The certificate of origin and dates of prohibition were retained, but it was decided to require that, in addition, all consignments of raw cherries arriving from Europe before those dates should be certified free from the larvae of cherry fruit fly. If experience shows that the assurances given on the certificate are met the prohibition dates will gradually be extended until there is no restriction on entry: if not, it may be necessary to consider prohibition from an earlier date. Here again, therefore, the exporting country has it in its own power to facilitate its trade with Britain by ensuring adequate control of a pest within its own boundaries.

REFERENCES

Fryer, J. C. F., – 1934. Colorado beetle at Tilbury. J. Minist. Agr. Lond. 40: 907–912.

Moore, W. C., – 1952. Principles underlying plant import and export regulations. Plant Path. 1: 15–17.

Moore, W. C., – 1953. International trade in plants and the need for healthy planting material. Rep. 13th intern. hortic. Congr. 1952, 552–558. Reprinted in J. roy. hort. Soc. 78: 454–462.

Report, – 1923. Report of the International Conference of Phytopathology and Economic Entomology, Holland, Wageningen.

Slogteren, E. van, – 1929. The biological basis for the international movement of plants and plant products. Proc. int. Congr. Pl. Sciences: 1343–1346.

Slogteren, E. van, – 1935. Plant quarantine and international co-operation in scientific research. Proc. 6th int. bot. Congr.: 185. See also Lab. voor Bloembollenond. Lisse, Meded. no. 53.

Thomas, I., – 1952. Colorado beetle in England in relation to its spread on the Continent. Plant Path. 1: 103–108.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 361–363

PROFESSOR DR. E. VAN SLOGTEREN, PROTECTOR OF DUTCH BULBS

BY

WILLIS H. WHEELER

Plant Quarantine Division, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C.

I am honored to be asked to write of my good friend in the VAN SLOGTEREN number of "Tijdschrift over Planteziekten". It was my privilege to first meet the Professor, as he is affectionately known to all of us in America, during the summer of 1948. His cordiality and kindness then and in our several meetings since that time are bright memories for me.

We in the United States who grow bulbs, and especially daffodil bulbs, owe the Professor a debt of gratitude. When daffodil culture in the British Isles and the Netherlands was suffering from the ravages of the bulb and stem nematode (eelworm), *Ditylenchus dipsaci* (KÜHN) FILIP., in the early 1920's, he and J. K. RAMSBOTTOM, an English scientist, worked out a method of treating daffodil bulbs to free them of the eelworm. This treatment, soaking in hot water at 43° C for four hours, killed the pest but permitted the bulbs to grow and in some cases increase in weight, even more than untreated bulbs. Thus, a major threat to the daffodil industry was eliminated, and from my own experience I know that today it is most unusual to find the nematode in the narcissus plantings of Holland. That treatment, plus the careful inspection work of the Netherlands Phytopathological Service, gives the world daffodils free of eelworm.

The hot water bulb treatment not only eliminated nematodes when properly given, but it also killed the bulb fly larvae and bulb scale mites, pests of considerable importance when not controlled. However, much careful work had to be done before the treatment was finally perfected to the point where the pests were killed without damaging the bulbs. When that was accomplished, crop production increased through elimination of the pests, and in some cases the treatment appears to have a stimulatory effect on the growth of the bulbous plants.

In later years, following World War II, another nematode became troublesome. It was the one usually identified as *Ditylenchus destructor* THORNE, and it had chosen bulbous iris varieties for attack. When certain infected shipments were given a hot water treatment following arrival in the United States, the outcome was disastrous to the bulbs. By 1948 the problem had become so serious that representatives of the United States Department of Agriculture were invited to visit the Netherlands to confer on the matter with growers, plant protection officials, and plant pathologists. Then it was I had the pleasure of meeting Prof. VAN SLOGTEREN, whose fame as a plant pathologist and scientist had reached many parts of the world. Out of that meeting has come a friendship I have valued through the years, since the Professor is a man of many and varied interests.

When studying the iris nematode in the bulb fields and in the facilities provided at the Laboratorium voor Bloembollenonderzoek at Lisse, we discovered

the Professor had anticipated the need for a remedy and had already worked out a treatment that would eliminate the nematode without damaging the iris bulbs. By careful experimentation he had found that the timing of the treatment was the really important matter, if bulb injury was to be avoided. During that summer (1948) the treatment was given to the iris shipped to the United States, not without fear by some of the exporters, but the success of the treatment once again demonstrated how carefully the Professor and his staff had carried out their research.

Growing out of the Professor's bulb treating work has been a lessened plant quarantine problem, the thing of primary interest to the Plant Quarantine Division of the U. S. Department of Agriculture. By the routine use of the hot water treatment, virtually all animal pests can be eliminated from several of the bulbous crops produced in the Netherlands. Prior to the use of those treatments, bulb pests, and especially nematodes, were a real problem. Hence the quarantine workers of the U. S. Department of Agriculture salute Prof. VAN SLOGTEREN for his very evident accomplishments in the field.

Not so evident when inspectors of the Department examine the dry bulbs offered for entry into the United States is the work he has done in the field of virus research. The inspection of dry bulbs or roots of iris, dahlias, daffodils, and hyacinths does not tell of virus diseases within. Therefore, their detection must be done in other ways. Early in his work the Professor recognized the virus diseases as a serious problem in plant growth and began his campaign against them. In some cases he had first to prove the suspected conditions were actually caused by transmissible viruses, a task sometimes most difficult to accomplish. Such proof frequently took years of work to produce, and even when it was announced, all growers were not at first convinced. They had seen the symptoms of the virus diseases for as long as they had known the infected varieties, but they had noticed no sign of rapid deterioration, so they were not convinced that they had an important disease problem. In the beginning, too, the manner in which the virus diseases spread was not known, although many theories were propounded on the subject. Later, as knowledge increased, insect vectors were suspected. Prof. VAN SLOGTEREN and his associates studied that possibility and in 1940 were ready to publish their findings which dealt extensively with the problem of virus diseases of daffodils. World War II prevented the sending of the article to England for publication in the Daffodil and Tulip Yearbook of the Royal Horticultural Society. As a result, it was originally published in the Netherlands in 1941. Following the end of the war, this article by Prof. VAN SLOGTEREN and his colleague, Dr. MARIA P. DE BRUYN OUBOTER, did appear in the Daffodil and Tulip Yearbook for 1946 and carried certain additional information developed during the war years. In the article we not only have pictures in black and white but also in color of the daffodil virus diseases, and we have information on the species of aphids responsible for their spread from plant to plant.

These investigations at the Lisse Laboratory have not only given bulb growers of the world better knowledge of the importance of keeping virus diseases out of their stocks, but they have also given better ways of detecting the presence of virus diseases by serology. That development is especially important to the grower who is trying to produce disease free bulbs, since virus diseases may be masked in certain varieties. Such hidden infection can be more easily detected by serological methods.

Growing out of our knowledge of the Professor's long years of research which could only be recorded in many volumes of writing, is our appreciation of what he has done for the people of the world who enjoy bulbous flowers, whether the bulbs are grown in America, the Netherlands, South Africa, or other temperate parts of the world. He has not hidden his knowledge and his discoveries, but as a true scientist he has freely sent out the story of his learning to the world, to be used for the betterment of all mankind.

It has been a privilege to know the Professor and to write briefly of his work which has been so important in improving Dutch bulbs and has accordingly reduced the problems of the Plant Quarantine Division of the U. S. Department of Agriculture. During our many conversations he has always agreed that the buyer is entitled to pest-free bulbs, and he has unceasingly worked to help the bulb grower produce such bulbs.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 364-367

KOERS HOUDEN OP HET WETENSCHAPPELIJK ONDERZOEK

DOOR

C. J. BRIEJÈR

Directeur Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

Het is vandaag regenachtig. De bergen zijn verborgen achter een dikke mist. Dus geen tocht langs zonnige bergpaden te midden van de uitbundige alpenflora, geen verre uitzichten over besneeuwde toppen, geen boterhammen met kaas en een appel op een primitief bankje van een berghut, de smakelijkste „lunch" die er bestaat. Een dag om rustig wat te lezen en te schrijven.

Hoewel ik mijn vakantie in Zwitserland doorbreng, op grote afstand van de bollenstreek, word ik hieraan toch dagelijks herinnerd. Het chalet dat ik tijdelijk bewoon heet namelijk „La Jacinthe". Een klein eindje verder staat een ander chalet dat „La Tulipe" gedoopt is. Beide chalets zijn het eigendom van een Nederlandse familie.

Zo'n vakantie is voor mij allerminst een overbodige weelde. De beslommeringen van de Plantenziektenkundige Dienst drukken zwaarder op degene die daarvan de leiding heeft dan menigeen vermoedt. Het is mij echter herhaaldelijk gebleken dat Prof. VAN SLOGTEREN dit wel inziet. Meermalen heeft hij mij gezegd: „Ik ben maar blij dat ik geen directeur van de P.D. ben!" Maar hij kent de moeilijkheden waarvoor onze Dienst staat dan ook zeer goed en vele malen heeft hij krachtig meegewerkt aan het vinden van een oplossing daarvoor. De resultaten van zijn onderzoekingen en zijn gezaghebbende stem gaven daarbij vaak de doorslag. Het is mij niet mogelijk hiervan een overzicht samen te stellen, omdat de leiding van de P.D. mij eerst betrekkelijk kort geleden, in 1947, is opgedragen. VAN SLOGTEREN's activiteiten begonnen veel eerder.

Men denke maar eens aan de beruchte actie die omstreeks 1924 in de U.S.A. werd gevoerd om tot een invoerverbod van narcissen te komen op grond van aantasting door aaltjes en de narcisvlieg. De door hem uitgewerkte warmwaterbehandeling was hiervoor een afdoende oplossing en zijn krachtige, op feiten gebaseerde vertogen brachten de toenmalige overdreven beroeringen in de U.S.A. tot juiste proporties terug. Ook voor een andere ernstige aantasting, die onze export bedreigde, wist hij een oplossing te vinden. Velen zullen zich nog wel herinneren welke verwoestingen het geelziek van hyacinten enige tientallen jaren geleden aanrichtte. Door het toepassen van „heetstoken" kon ook deze kwaal worden overwonnen. Drie ernstige aantastingen die VAN SLOGTEREN overwon zonder chemische bestrijdingsmiddelen, hetgeen zijn verdienste nog groter maakt.

Op het gebied van virusziekten deed hij baanbrekend werk, hetgeen niet alleen de bloembollencultuur, maar ook de teelt van dahlia's, pootaardappelen en vele andere gewassen ten goede kwam.

Ik doe hier maar een paar grepen uit de indrukwekkende reeks van resultaten die door VAN SLOGTEREN en zijn medewerkers werden bereikt. De bestrijding van

ziekten en plagen vormt daarvan nog maar een klein onderdeel. De taak van de Plantenziektenkundige Dienst werd er aanzienlijk door verlicht, zodat ik als tegenhanger van de hierboven geciteerde opmerking van VAN SLOGTEREN kan zeggen: „Ik ben maar blij dat de P.D. altijd zoveel steun en medewerking mocht ondervinden van het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek."

Dit Laboratorium is een blijvend monument voor het werk van VAN SLOGTEREN. Vele jaren geleden is hij met niets begonnen en thans staat er een instituut dat tot de modernste en best uitgeruste ter wereld behoort. Stromen wetenschappelijke onderzoekers hebben het bezocht en velen van hen hebben er een tijdlang gewerkt. Voor al deze mensen is het geen vraag meer of de Nederlandse bloembollencultuur wel steunt op een gezonde wetenschappelijke basis.

De meeste kwekers en exporteurs zullen dan ook wel terdege beseffen dat dit Laboratorium van zeer grote waarde is voor hun bedrijven en dat het naast hun eigen energie en ondernemingsgeest veel heeft bijgedragen tot de grote vlucht die de bloembollencultuur heeft genomen. Toch ben ik van mening dat zij nog veel meer zouden kunnen profiteren van het werk van VAN SLOGTEREN en zijn medewerkers. Het zou zelfs gewenst zijn dit wetenschappelijk onderzoek nog uit te breiden en er nog meer geld aan te besteden. Er doet zich tegenwoordig echter een verschijnsel voor dat ik in sommige opzichten verontrustend acht. Men kan dit ontdekken in alle vakbladen en in alle verslagen van vergaderingen. Er wordt zeer veel gesproken en geschreven over de handel en de prijzen, over teeltregelingen, mechanisatie en reclame. Met juichtonen wordt vermeld dat de exportwaarde al weer omhoog is gegaan. De bollen zelf worden wel niet helemaal vergeten, maar zij komen toch op de tweede plaats. Zij moeten zich maar aanpassen aan de eisen van handel en economie.

Nu zijn er natuurlijk volstrekt geen bezwaren tegen het streven om de produktie te verhogen en de arbeid te vereenvoudigen; ook in dit opzicht is veel bereikt dat van blijvende waarde is. Men zal bij deze ontwikkeling echter terdege rekening moeten houden met de eisen die het produkt zelf nu eenmaal stelt. Ik heb de indruk dat dit niet altijd in voldoende mate wordt ingezien en daartegen meen ik ernstig te moeten waarschuwen. Een stabiele export van een uitstekend produkt is meer waard dan een voortdurende stijging, die in het tegendeel kan veranderen als de afnemers niet tevreden blijven. Teneinde de zeer goede naam te behouden die het Nederlands produkt op het ogenblik heeft, zal naar mijn mening in sommige gevallen een andere koers gevaren moeten worden.

Een voorbeeld van verkeerde koers betreft het tijdstip van verzending naar de U.S.A. en Canada. Iedereen in de bollenstreek is op de hoogte van de besliste mening van VAN SLOGTEREN dat dit tijdstip te vroeg is. Hij heeft dit zo vaak betoogd dat men het zelfs zijn stokpaardje is gaan noemen. Toch heeft men zijn raad niet opgevolgd, omdat de handel andere eisen stelt. Dit is echter het paard achter de wagen spannen. De handel zal zich moeten aanpassen aan de eisen en de eigenschappen van het produkt en niet omgekeerd.

Verschijnselen die er op wijzen dat onvoldoende rekening wordt gehouden met het produkt zelf, komen herhaaldelijk aan den dag bij de inspecties die door de Plantenziektenkundige Dienst worden verricht. In het algemeen neemt het aantal ziekten en plagen toe. In de schuren worden teveel bollen aangetroffen die

beschadigd zijn door een te ruwe behandeling. Vooral hyacinten zijn daarvoor erg gevoelig. Het „zuur" in tulpen wordt sterk bevorderd door een verkeerde methode van bewaren, waarbij deze bollen dicht opeen in zakken op de stellingen worden geplaatst. Narcissen blijken herhaaldelijk aangetast te zijn door larven van de grote en de kleine narcisvlieg, hetgeen door een goede bestrijding in de meeste gevallen voorkomen kan worden. Zo zijn er vele tekenen aan de wand die tot nadenken moeten stemmen.

Uit de tegenwoordige gang van zaken kunnen een aantal praktische conclusies worden getrokken betreffende maatregelen die tot verbetering kunnen leiden, waarvan ik er enige noem.

Tot het verkrijgen van een goed produkt zal men aandacht moeten besteden aan de *grond* waarin het groeit. De toestand, waarin deze grond verkeert, is van groot belang voor kwaliteit en gezondheidstoestand van de bollen. Teneinde die grond zo nu en dan rust te geven, zou ik meer percelen bezaaid willen zien met groenbemesters. Van minstens evenveel belang is een juiste *bemesting*. Ik heb de indruk dat nog te vaak „op het gevoel" wordt bemest of naar aanleiding van algemene richtlijnen, die echter stellig niet voor iedere grond gelden. Voor een juiste en optimale bemesting is het beslist noodzakelijk geregeld grondonderzoek te laten verrichten. Dit kost weinig en brengt veel op.

Dan komen wij aan het *plantgoed*. Het spreekt wel vanzelf dat sterk, gezond en op de juiste manier behandeld plantgoed van zeer grote waarde is. Ook hierbij kan de handel ons wel eens parten spelen. Het is natuurlijk plezierig om veel te kunnen verkopen, maar dit tijdelijk gewin wordt verlies als de partijen worden verzwakt, doordat er teveel uit geraapt wordt. Ik vraag mij verder wel eens af of mechanisch planten en rooien inderdaad verantwoord zijn. Proeven, waarbij de resultaten van werken met de hand en met machines nauwkeurig worden vergeleken, lijken mij gewenst.

Een kwestie, waarop ik niet krachtig genoeg kan wijzen, is *de absolute noodzaak om zowel van het veld als uit de schuren onbarmhartig alles te verwijderen wat ziek of zwak is*. Bollen zijn betrekkelijk kostbare gewassen en ik kan volkomen begrijpen dat men wel eens terugschrikt voor uittrekken en weggooien. Sommigen vinden dit „zonde", zulke bollen kunnen ook nog wel wat opbrengen. Dit is echter een kortzichtige opvatting. Alles wat niet deugt is een groot gevaar en daarom moet het direct verwijderd en vernietigd worden. Het is beter tien bollen teveel op te ruimen dan één te weinig. Ik acht het een levensbelang voor onze bloembollencultuur dat aan deze selectie krachtig de hand wordt gehouden.

De zorg voor de bollen in *schuren* en *pakplaatsen* laat ook wel eens te wensen over. Ik ken zeer welvarende bedrijven waar men „van de grond kan eten", hetgeen bewijst dat het ondanks alle drukte mogelijk is aan orde en netheid de hand te houden. Dit is ook noodzakelijk, want afval, platgetrapte bollen, manden met afgekeurde en vergeten rommel kunnen bronnen van infecties zijn. Een zorgvuldige hygiëne is ongetwijfeld van groot voordeel.

Het *klaarmaken van doosjes* lang vóór de verzending levert ook vaak moeilijkheden op. Dit kan bedrijfstechnisch noodzakelijk lijken, maar de bollen verdragen het in vele gevallen niet. Bij de inspectie door de P.D. blijkt vaak dat zij weer uitgepakt en opnieuw gesorteerd moeten worden.

Met deze praktische wenken vertel ik volstrekt niets nieuws. In verband met de tegenwoordige gang van zaken achtte ik het echter van belang er nog eens de aandacht op te vestigen. Wat kennis over bloembollen betreft, kan ik mij geenszins meten met VAN SLOGTEREN, er is wel niemand die daarvan zoveel weet als hij. Evenals hij heb ik echter mijn hart verpand aan deze cultuur, temidden waarvan ik een kwart eeuw woonde. Ik vind het een prachtig bedrijf en ik heb groot respect voor de energie en de ondernemingsgeest van degenen die het beoefenen. Het is mede daarom dat ik meen mij te mogen veroorloven te waarschuwen tegen een ontwikkeling, waarbij de belangen van het produkt achtergesteld dreigen te worden bij de belangen van de handel. Tengevolge hiervan zou dit zo bloeiend bedrijf een terugslag kunnen ondervinden, hetgeen ik zeer zou betreuren. Dit kan stellig voorkomen worden, want er is wel geen andere cultuur in Nederland die op een zo modern en goed toegerust centrum van wetenschappelijk onderzoek kan bogen als de bloembollencultuur. Het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, tot stand gebracht door VAN SLOGTEREN met krachtige steun van het bedrijfsleven, is een lichtbaken op welks koers men rustig kan varen. Ik hoop dan ook dat kwekers en exporteurs hun koers in de eerste plaats zullen bepalen op grond van de conclusies waartoe het Laboratorium bij zijn zo gedegen wetenschappelijk onderzoek is gekomen.

Verbier, juli 1958.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 368–370

DE BETEKENIS VAN HET WERK VAN PROFESSOR VAN SLOGTEREN VOOR DE NEDERLANDSE POOTAARDAPPELTEELT

DOOR

J. H. Brust

Nederlandse Algemene Keuringsdienst voor Landbouwzaden en Aardappelpootgoed, Wageningen

Toen in mei 1943 de oud-voorzitter van de N.A.K., Dr. J. G. Oortwijn Botjes, aan Prof. van Slogteren vroeg of het hem mogelijk leek door middel van serologisch onderzoek het bladrolvirus in de aardappelen te onderkennen, gaf laatstgenoemde als antwoord, dat hij dit onderzoek gaarne zou willen aanpakken, doch dat het hem gewenst voorkwam de proefnemingen te beginnen met het X-virus, omdat aan buitenlandse onderzoekers was gebleken, dat tegen dit virus een antiserum kon worden bereid.

Uit dit antwoord blijkt reeds duidelijk, dat dit door Prof. van Slogteren opgezette onderzoek systematisch werd aangepakt en dat hij de praktische betekenis van zijn speurwerk steeds in het oog hield.

Niemand heeft kunnen vermoeden dat de wijze, waarop Prof. van Slogteren dit onderzoek opzette, tot gevolg zou hebben, dat jaarlijks honderdduizenden serologische reacties zouden worden uitgevoerd.

De wijze, waarop de serologische reactie op het X-virus geschikt werd gemaakt voor een toepassing in serie in de laboratoria der gewestelijke keuringsdiensten, heeft er toe geleid, dat het gehele Nederlandse systeem voor de pootgoedkeuring kon worden herzien en in een zodanige vorm kon worden gegoten, dat al het basis-materiaal, dat met behulp van de stamselectiemethode is opgebouwd, op zorgvuldige wijze serologisch kan worden getoetst.

Het gevolg van deze totale omschakeling in het keuringssysteem voor pootaardappelen is geweest, dat binnen enkele jaren de Nederlandse pootgoedpercelen vrijwel geheel vrij waren van het X-virus, dat zich gedurende de oorlogsjaren op onrustbarende wijze had verbreid.

De serologische reactie tegen het X-virus, die aanvankelijk in Nederland uitsluitend werd toegepast in het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, leerde ons, dat een uitgebreider toepassing noodzakelijk was, wilde de Nederlandse pootgoedteelt zo veel mogelijk profiteren van de resultaten van het in Lisse verrichte onderzoek. Wij zijn Prof. van Slogteren in hoge mate erkentelijk voor de ruime blik, dat hij in 1947 heeft getoond, toen hij het noodzakelijk oordeelde, dat het routineonderzoek niet op zijn laboratorium in Lisse zou blijven, doch overgebracht diende te worden naar de laboratoria onzer keuringsdiensten.

Voor de aandacht, die hij daarna heeft geschonken aan het onderzoek op het gebied van de aardappelserologie, kunnen de Nederlandse aardappeltelers hem niet erkentelijk genoeg zijn.

Hij stond altijd klaar met zijn staf van uitermate deskundige medewerkers om ons in de laboratoria der keuringsdiensten bij het oplossen van gerezen moeilijkheden de helpende hand te bieden. Daarnaast gaf hij veel van zijn kostbare tijd om de medewerkers van de gewestelijke keuringsdiensten de nodige vooroplei-

dingen te geven. Bovendien werd op zeer intensieve wijze verder gewerkt aan elk aardappelprobleem, dat wij hem voorlegden. Bij de enthousiaste wijze, waarop het werk in zijn laboratorium werd uitgevoerd, was het haast bij voorbaat duidelijk dat dit tot successen moest leiden.

Nimmer zullen wij vergeten, hoe vlot in de zomer van 1951 de laboratoria der gewestelijke keuringsdiensten van de N.A.K. van antiserum werden voorzien, nog geen twee weken nadat het zo zeer verbreide S-virus als zodanig was onderkend. De intensieve samenwerking, die wij met het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek mochten hebben met betrekking tot het grote probleem der „afwijkende planten" en die resulteerde in de ontdekking van het S-virus, was slechts mogelijk door de ruime blik van Prof. VAN SLOGTEREN. Het is dan ook niet toevallig, dat dit „nieuwe" virus S(logteren)-virus werd gedoopt.

Welk een grote betekenis het uitschakelen van dit virus in het Nederlandse pootgoed heeft, zal een ieder duidelijk zijn, die weet dat dit virus een opbrengstreductie van gemiddeld 15 % geeft, terwijl enkele onzer grootste aardappelrassen voor bijna 100 % met dit virus besmet waren.

Dat wij thans kunnen verklaren, dat geen enkel Nederlands aardappelras geheel met dit virus besmet is geraakt, danken wij aan het succesvolle werk van Prof. VAN SLOGTEREN en zijn medewerkers.

De successen bleven niet beperkt tot het X- en het S-virus; toen enkele jaren geleden een tot die tijd onbekend virus in het ras Bintje werd ontdekt, gelukte het Prof. VAN SLOGTEREN en zijn staf ook hiertegen een antiserum te bereiden. Hoewel dit M-virus in de praktijk geen grote betekenis heeft, is door het toepassen van ons driewaardig antiserum (X, S en M) het voorkomen van een verdere verbreiding ook van dit virus gewaarborgd.

Het maken van antisera tegen de lichte mozaïekziekten, die bij veldkeuringen veel moeilijkheden veroorzaken, is niet de enige verdienste van de scheidende hoogleraar. Grote betekenis moet ook worden toegekend aan de wijze waarop hij en zijn medewerkers de methodiek van het onderzoek steeds wisten te perfectioneren. Wij behoeven slechts te bedenken welk een grote verbetering het was voor de laboratoria onzer keuringsdiensten, toen zij over konden gaan tot het toepassen van de in Lisse uitgewerkte druppelmethode, de z.g. microreactie, welke een ontzaglijke arbeidsbesparing bij het onderzoek koppelde aan een grote bezuiniging in het gebruik van antiserum.

Met de grootste lof zijn alle gewestelijke keuringsdiensten en de centrale N.A.K. vervuld over de wijze, waarop ons steeds van Lisse uit op zeer korte termijn de meest waardevolle adviezen werden gegeven.

Dat men in Lisse niet op zijn lauweren is gaan rusten werd ons nog zeer onlangs gedemonstreerd. In de kort achter ons liggende jaren zagen wij in verschillende naburige landen, dat door de aardappelpercelen een besmetting met een Y-virus voortwoekerde, die in 1957 in enkele van die landen tot een voor de pootgoedteelt catastrofale ontwikkeling kwam. De eerste symptomen van infectie met deze stam van het Y-virus werd in 1957 in ons land langs de grenzen gesignaleerd. Ogenblikkelijk werd ook over dit probleem contact met het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek gezocht met als resultaat, dat al onze keuringsdiensten reeds deze zomer op onbeperkte wijze van Lisse uit de beschikking kregen over het benodigde antiserum, hetgeen onze veldkeuringen een zeer waardevolle steun heeft gegeven.

Deze beschouwing over de betekenis van het brede inzicht, de hulpvaardigheid

en doeltreffendheid, waarmee Prof. VAN SLOGTEREN zich heeft ingezet om vele pootaardappelproblemen tot een oplossing te brengen, is op vele punten onvolledig omdat het onmogelijk is deze grote betekenis onder woorden te brengen.

Het grootse resultaat van het werk van Prof. VAN SLOGTEREN ligt verankerd in de gezondheidstoestand en het produktievermogen van de Nederlandse pootaardappelen.

Allen, die betrokken zijn bij de Nederlandse pootaardappelteelt in de breedste zin des woords, zijn Prof. VAN SLOGTEREN in hoge mate erkentelijk voor de positieve bijdrage die hij geleverd heeft tot de instandhouding van een gezonde pootaardappel.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 371–378

DE BETEKENIS VAN PROFESSOR VAN SLOGTEREN VOOR HET SEROLOGISCH ONDERZOEK VAN DE AARDAPPELVIRUSZIEKTEN

DOOR

A. ROZENDAAL

Laboratorium voor Phytopathologie, Wageningen

Het is geen gemakkelijke taak om in kort bestek de betekenis van Prof. VAN SLOGTEREN en zijn staf voor de serologie van de virusziekten der planten te schetsen. Vanzelfsprekend wil ik mij beperken tot het werk verricht in verband met de aardappel. Na een jarenlange samenwerking op dit gebied is het mij een voorrecht hiervan dankbaar getuigenis af te leggen. Met intens genoegen zal ik aan deze periode blijven terugdenken. Aan spanning ontbrak het daarbij nooit. Iedere zending aardappelmonsters naar het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek te Lisse ging gepaard met de zin: „We zijn erg benieuwd naar de uitslag" en ieder antwoord met het verzoek: „Laat direct weten in hoeverre het klopt met de waarnemingen te velde". Hieruit zou men kunnen afleiden, dat we elkaar eigenlijk controleerden. In zekere zin was dit ook dikwijls zo. Te velde worden de virusziekten van de aardappel beoordeeld naar de symptomen en dit stuit maar al te vaak op grote moeilijkheden. Onder bepaalde omstandigheden kunnen de ziekteverschijnselen zo zwak zijn, dat beoordeling vrijwel onmogelijk wordt. Symptoomloze „carriers" vallen zelfs volledig buiten een veldbeoordeling. Anderzijds kunnen op het oog gelijke virusziekten door de meest uiteenlopende virussen worden veroorzaakt. Voor het telen van gezond pootgoed is het echter wel degelijk van belang te weten welk virus in het spel is. Het ene virus vereist nu eenmaal een bestrijdingswijze, welke afwijkt van die van het andere.

Om vast te stellen of een aardappelplant een bepaald virus bevat kon men aanvankelijk slechts gebruik maken van infectieproeven op bepaalde toetsplanten. Het behoeft geen nader betoog, dat deze methode voor de praktijk te veel tijd en ruimte vraagt. Ook het onderzoek op floëemnecrose bij de bladrolziekte gaf geen volledige oplossing. Afwezigheid van deze necrose kon hier nog wel degelijk samen gaan met de aanwezigheid van het bladrolvirus; we behoeven slechts te denken aan late, primaire infecties. Gezien de successen van Prof. VAN SLOGTEREN met de serologische diagnostiek bij verschillende bloembolgewassen, was er voor Dr. OORTWIJN BOTJES, destijds voorzitter van de Nederlandse Algemene Keuringsdienst, alle reden te verwachten, dat ook ten aanzien van de bladrolziekte de serologie heil zou kunnen brengen. En waar kon dit werk beter verricht worden dan in Lisse? Het verzoek tot het bereiden van een antiserum tegen het bladrolvirus betekende echter het summum van moeilijkheden. Tot nu toe (begin 1940) was nog niemand er in geslaagd een antiserum tegen dit virus te bereiden, dit in tegenstelling met zeer gunstige resultaten ten aanzien van enkele andere aardappelvirussen. Zo gelukte het DVORAK reeds in 1927 een antiserum te bereiden tegen het mozaïekvirus, waarvan nu vaststaat, dat dit het X-virus is geweest. Belangrijk fundamenteel werk werd verricht door o.a. HELEN PURDY BEALE (1928–'34), CHESTER (1934–'37) en BAWDEN & PIRIE (1936).

Daarbij bleek, dat vooral het X-virus aanleiding gaf tot een hoogwaardig antiserum. Het lag dus voor de hand dat men ook in Lisse zijn eerste krachten op dit virus ging beproeven. Dit betekende het begin van onze samenwerking. Het Laboratorium voor Mycologie en Aardappelonderzoek onder leiding van Prof. QUANJER (later kreeg dit laboratorium de naam van Laboratorium voor Phytopathologie) zou als leverancier van virushoudend materiaal fungeren. De samenwerking hield tevens in, dat ter toetsing van de nieuw bereide antisera toezending van verschillend gezond en ziek materiaal diende plaats te vinden.

De toetsing van het eerst bereide X-virus-antiserum verliep geheel naar wens. Alleen het met dit virus besmette materiaal bleek met het antiserum te reageren. De meest uiteenlopende stammen van het X-virus werden in het onderzoek betrokken, echter met hetzelfde resultaat. Het was dus niet noodzakelijk voor iedere stam een afzonderlijk antiserum in te schakelen.

Toen dit X-virus-antiserum „ter lering" werd bereid, bevroedde niemand dat dit zo spoedig als redder in de nood zou optreden. Weliswaar was door Dr. OORTWIJN BOTJES en Prof. QUANJER een X-virus onder de naam van topnecrosevirus beschreven, maar dit virus zou in ons land slechts voorkomen bij het aardappelras Eersteling, dat er „carrier" voor is. Over het optreden van andere stammen van dit virus was verder nog niets bekend. Omstreeks 1940 bleek echter, dat ook in ons land verschillende stammen van het X-virus voorkomen, die in hoge mate afwijken van de stam uit Eersteling. Deze stammen veroorzaken in de meeste rassen, o.a. Bintje, een min of meer duidelijk tussennervig mozaïek, in tegenstelling tot het virus uit Eersteling, dat in de meeste rassen na enting een topnecrose geeft. Dat deze stammen pas zo laat ontdekt zijn, is te verklaren door het feit, dat dit tussennervig mozaïek niet voldoende onderscheiden werd van het „gewone" mozaïek, dat door het A-virus wordt teweeggebracht. Hieruit blijkt, hoe voorzichtig men moet zijn met het „hanteren" van symptomen en hoe nodig het is over een goed differentiatiemiddel te beschikken.

Voortgezet onderzoek bracht aan het licht, dat dit X-virus bij bepaalde rassen zeer veelvuldig optrad. Zelfs in gebieden waar het bladrolvirus slechts sporadisch voorkwam, was de situatie wat X-virus betreft zeer ernstig. Achteraf is dit volledig te verklaren. Met vroeg rooien dacht men alle virussen te kunnen bestrijden en de stamboomteelt wel te kunnen missen. Virussen (zoals het X-virus) die niet met luizen overgaan maar door middel van besmet sap (dus door contact) kunnen op deze wijze echter niet in toom worden gehouden. Hier dient men andere wegen te bewandelen. Met massa-selectie valt hier niets te bereiken. Alleen de stamboomteelt, waarbij men uitgaat van gezonde planten en deze geïsoleerd verder vermeerdert, kon hier uitkomst brengen. Echter niet zonder meer. Ervaringen te velde hadden namelijk geleerd, dat de X-virussymptomen maar al te dikwijls zeer moeilijk of in het geheel niet waar te nemen zijn. Bij de selectie en keuring gaf dit aanleiding tot de grootste moeilijkheden en onrechtvaardigheden. Alleen het X-virus-antiserum kon hier uitkomst brengen.

Reeds in 1944 werden de eerste monsters door de praktijk ter onderzoek naar Lisse gezonden. Aanvankelijk werd het materiaal met behulp van de precipitatiemethode onderzocht. Intussen werd echter een zodanige agglutinatie-reactie uitgewerkt dat het mogelijk werd de reacties aan de lopende band te verrichten. Eindelijk beschikte men dan over een snelle en geheel objectieve methode! Nu bleek pas goed, hoe ernstig de toestand wel was. Verschillende rassen, o.a. Alpha, Eigenheimer (in het bijzonder Blauwe Eigenheimer) en Ideaal, vertoon-

den een zeer hoog besmettingspercentage. Tevens kwam daarbij aan het licht dat bepaalde X-virusstammen in bepaalde aardappelrassen uitermate zwakke of helemaal geen symptomen teweegbrengen. Het is duidelijk, dat deze stammen, ook voor de stamselecteur, de grootste moeilijkheden geven. Het uitkiezen van op het oog gezonde uitgangsstammen is dan ook geen volledige waarborg wat betreft het vrij zijn van X-virus. Alleen de combinatie met serologisch onderzoek kan hier volledige garantie geven. Dank zij Prof. VAN SLOGTEREN en zijn staf kon deze geperfectioneerde stamboomteelt in 1947 door de N.A.K. worden ingevoerd.

Voor sommige rassen was dit nog juist op tijd. Via enkele getrouwe stamselecteurs of via het serologisch onderzoek van heel veel materiaal kon van deze rassen nog wat gezond plantgoed voor verdere opbouw worden gevonden. Op deze wijze kon een sanering van ons pootgoed tot stand worden gebracht, die ook in het buitenland de grootste bewondering heeft afgedwongen. Ik zal mij van het geven van cijfers onthouden. Ik wil slechts opmerken, dat dank zij succesvolle samenwerking van het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek en de N.A.K. in ons land iets tot stand is gebracht, waartoe men in het buitenland blijkbaar niet kon komen. De leiding bij het uitwerken van de serologische diagnostiek voor de praktijk en bij het toepassen ervan door de praktijk is in ons land wel in zeer goede handen geweest.

Natuurlijk is dit alles niet zonder strubbelingen gegaan. Niet iedereen vond het verantwoord zo krachtdadig in te grijpen. Men kon zich moeilijk voorstellen dat de zwakke ziektebeelden aanleiding gaven tot belangrijke oogstdepressies. Dat de aanwezigheid van het X-virus een potentieel gevaar betekent voor het ontstaan van complexziekten werd via demonstratie-materiaal eerder ingezien. Dat het keuringstechnisch veel gemakkelijker is indien men te maken heeft met X-virusvrije gewassen (en dus niet uitgemaakt behoeft te worden welke X-virusstam nog geduld mag worden en welke niet) werd ook wel toegegeven. Tenslotte gaf echter het spookbeeld, dat zonder ingrijpen in ons land dezelfde algehele besmetting zou optreden als reeds het geval was met heel veel handelsrassen in het buitenland, de doorslag in de goede richting.

De combinatie van de stamboomteelt en de serologische diagnostiek op het X-virus had niet alleen tot gevolg, dat men dit virus onder de knie kreeg. De afzonderlijk vermeerderde stammen kunnen (en moeten) nu eenmaal door vergelijking veel intensiever worden beoordeeld dan de grote praktijkvelden. Kleine verschillen kunnen op deze wijze gemakkelijker worden ontdekt en dit was aanleiding tot de onderscheiding van de zg. afwijkende planten. In dit verband dient de naam van de heer BIERMA te Holwerd, stamselecteur par excellence, genoemd te worden. Hoewel de heer BIERMA deze planten direct volledig veroordeelde als ziek, duurde het nog tot 1951 alvorens hier klaarheid in kon worden gebracht. En wederom was het Prof. VAN SLOGTEREN met zijn staf, die de praktische oplossing kon brengen. Merkwaardigerwijze doorkruiste dit onderzoek de pogingen tot het bereiden van een A-virus-antiserum.

Laatstgenoemde pogingen waren van het grootste belang, omdat ook het A-virus bij de beoordeling te velde grote moeilijkheden kan geven, o.a. door maskering bij hoge temperaturen. Van Mej. Dr. DE BRUYN OUBOTER kregen wij het verzoek A-virushoudend en gezond materiaal te leveren. Het lag voor de hand, dat we het zochten in lichte en donkere Industrie; het verschil tussen beide is immers, dat de lichte besmet is met A-virus en de donkere niet. Toen in 1950

een antiserum gewonnen was, viel de toetsing heel anders uit dan verwacht werd. Pogingen van andere onderzoekers om een bruikbaar A-virus-antiserum te verkrijgen waren tot nu toe zonder resultaat gebleven. Dat het sap van lichte Industrie met een duidelijke agglutinatie reageerde was een aangename ontdekking, die bijna te mooi was om waar te zijn. Minder aangenaam was, dat de donkere (A-virusvrije) Industrie ook een duidelijke reactie gaf. Bepaald ontstellend was echter, dat de meeste van de door ons gezonden monsters van het ras Bintje eveneens positief reageerden. Dit ras is immers te velde resistent tegen het A-virus. Het mysterie zou echter spoedig opgelost worden, dank zij het verzoek van de keuringsdienst Friesland een antiserum te bereiden tegen „de oorzaak" van de reeds eerder genoemde afwijkende planten van het ras Bintje. Het gewonnen antiserum bleek zowel positief te reageren met afwijkende Bintje als met lichte en donkere Industrie; de niet afwijkende Bintje-planten gaven echter geen enkele reactie te zien. Deze ervaringen werden aanleiding het lichte Industrie-antiserum eveneens te laten reageren met sap van wel en niet afwijkende Bintje; ook nu vertoonde alleen de afwijkende Bintje een positieve reactie. Alles wees er dus op dat we hier met dezelfde antisera te doen hadden en dat het antiserum tegen lichte Industrie niet tegen het A-virus was gevormd maar tegen een component, die zowel in lichte als donkere Industrie als in afwijkende Bintje voorkomt. Dat deze component werkelijk een virus vertegenwoordigt kon in hetzelfde jaar (1951) door middel van infectieproeven in Wageningen worden bewezen. Slechts enkele aardappelrassen (o.a. Bevelander en Profijt) bleken met een min of meer duidelijk mozaïek te reageren; de meeste reageerden slechts met zeer zwakke verschijnselen, waarbij de verandering van de habitus meer opviel dan de mozaïekachtige symptomen. Het was voor ons onderzoek in Wageningen van het grootste belang, dat alle twijfelgevallen in Lisse serologisch getoetst konden worden. Zonder deze hulp zou dit werk veel meer tijd en plaatsruimte hebben genomen. In de kortst mogelijke tijd kon bewezen worden dat dit virus, evenals het X-virus, met sap kan worden overgebracht.

Reeds in 1951 kon zoveel antiserum beschikbaar worden gesteld, dat het gehele stammenveld van de N.A.K. aan een serologisch onderzoek onderworpen kon worden. Toen kwam pas aan het licht hoe veelvuldig dit virus voorkomt. Verschillende rassen bleken er bijna volledig onder te zitten, o.a. Wilpo, Rode Star en Populair. Ook het ras Bintje vertoonde een enorme besmetting; in de meeste gebieden was geen gezonde plant meer te vinden. Het bleek toen ook duidelijk, dat zonder het antiserum nooit een bestrijding van dit virus mogelijk zou zijn. Daartoe waren in het algemeen de symptomen veel te weinig evident. Nu er echter een probaat diagnostisch middel aanwezig was, wenste de N.A.K. er ook de enige juiste consequentie uit te trekken. Alle besmette stammen dienden te worden opgeruimd. Zelden zal er door de N.A.K. een ingrijpender maatregel zijn genomen. De boosdoener moest natuurlijk een aanduiding hebben en wat kon men beter doen dan daarvoor de beginletter van de naam van de promotor van het serologisch onderzoek te kiezen. Zo werd de naam S-virus meteen een begrip. In het volgende jaar (1952) werden meer dan een miljoen planten zowel op het X- als het S-virus onderzocht. Dat het onderzoek op beide virussen niet eens zo heel veel meer werk met zich meebrengt was te danken aan het feit, dat aan de laboratoria van de provinciale keuringsdiensten een mengserum ter beschikking kon worden gesteld.

Het S-virus bleek allerminst tot ons land beperkt te zijn, integendeel. Alles

wijst er op, dat heel veel buitenlandse rassen er volledig mee zijn besmet. Ook bij deze rassen gaat het over het algemeen om uitermate zwakke ziektebeelden of om afwezigheid ervan. Het is dan ook niet verwonderlijk, dat dit virus pas zo laat ontdekt is. Voor ons land gelukkig nog net op tijd, want thans kan met heel veel voldoening worden geconstateerd, dat alle in de Rassenlijst ingeschreven Nederlandse rassen van het S-virus „gezuiverd" zijn geworden. Deze „zuivering" zal natuurlijk moeten blijven plaats vinden, want nieuwe besmettingen doen zich steeds weer voor, temeer daar nog altijd een aantal buitenlandse rassen wordt verbouwd, die voor dit virus „carrier" zijn. Het belangrijke ras Eersteling is zelfs besmet zowel met het X- als met het S-virus.

Het grote aantal planten dat jaarlijks dient te worden onderzocht vereist een enorme hoeveelheid antiserum. Dit werd aanleiding een micro-agglutinatiereactie uit te werken, die een grote besparing aan antiserum betekent. Een ander groot voordeel van deze methode is, dat er veel sneller door kan worden gewerkt. Sinds 1956 wordt deze methode (en hier mag de naam van Ir. VAN SLOGTEREN Jr. wel eens naar voren worden gebracht) met heel veel succes door de N.A.K. toegepast.

Het is ondoenlijk hier alle proeven en waarnemingen te vermelden, waarbij wij de hulp van het serologisch onderzoek hebben genoten. Prof. VAN SLOGTEREN en zijn staf stonden steeds voor ons klaar. Zonder onrechtvaardig te willen zijn ten opzichte van de andere medewerkers, zou ik voor deze samenwerking in het bijzonder Mej. Dr. DE BRUYN OUBOTER, Mej. CREMER en Ir. VAN SLOGTEREN Jr. willen danken. Hoeveel monsters hebben zij niet te verwerken gekregen. Dank zij hun werk was het mogelijk in korte tijd zoveel van het S-virus te weten te komen.

Zo konden de eigenschappen in vitro van het S-virus worden bepaald, te weten het thermale inactiveringspunt, de houdbaarheid en de verdunningsmogelijkheid. Wat betreft de waardplantenreeks bleek merkwaardigerwijze dat *Nicotiana tabacum* voor het virus onvatbaar is. Via sapinoculaties kon worden uitgemaakt, dat de rassen verschillen in vatbaarheid en dat het virus reeds serologisch kan worden vastgesteld, alvorens er sprake is van primaire symptomen. Een drietal stammen van dit virus bleek serologisch nauw aan elkaar verwant te zijn. Ze konden echter niet allen even gemakkelijk overgebracht worden.

In tegenstelling met het X-virus geeft het S-virus in combinatie met andere virussen geen typische complexziekten. Meestal treedt slechts een geringe versterking van het ziektebeeld op, zodat er dikwijls twijfel bestaat of het S-virus wel is overgegaan. Zonder serologische toetsing zouden we er niet gemakkelijk achter zijn gekomen. In nog hogere mate geldt dit voor dat tweetal jaren, waarin door wateroverlast onze entingen en nateelten onbeoordeelbaar waren geworden.

Tenslotte dient vermeld te worden dat een groot aantal oude aardappelrassen, die als geniteurs worden aangehouden (waaronder ook vele buitenlandse) werden getoetst op het S-virus. Het feit, dat daarbij een aantal negatief werd bevonden wijst erop, dat hier een resistentiefactor in het spel kan zijn.

Het zou te mooi zijn geweest als er na het S-virus geen ander virus meer „ontdekt" was. In 1955 was het echter weer zo ver. Entingen met in 1954 verzameld materiaal van Bintje-planten met een onbekende ziekte brachten een virus aan het licht, dat o.a. in de rassen Bevelander en Eigenheimer een hevig mozaïek, gepaard gaande met vervorming van de toppen der blaadjes, veroor-

zaakte. Het merkwaardige daarbij was, dat de Bintjes, die het vorige jaar een min of meer duidelijke bontheid en wat vervorming vertoonden, nu geen enkel ziekteverschijnsel lieten zien. Hier moest dus maskering in het spel zijn. Dit betekende echter ook dat hier zonder een antiserum in het veld niet veel te beginnen zou zijn. Het lag dus voor de hand Prof. VAN SLOGTEREN te vragen een antiserum tegen dit virus te laten bereiden. In het voorjaar van 1956 werd hiermee gestart en enkele maanden later kon het serum reeds getoetst worden. Het antiserum bleek van een hoogwaardige kwaliteit te zijn. In hetzelfde jaar werd door middel van de micro-agglutinatie-reactie de N.A.K. reeds in de gelegenheid gesteld het centrale stammenveld te toetsen. Slechts een zeer gering aantal stammen van de rassen Alpha en Bintje reageerde positief.

Achteraf is het volledig te verklaren dat juist in deze rassen besmetting werd geconstateerd. In deze weinig gevoelige rassen kon het virus als het ware ongemerkt binnendringen. De duidelijk reagerende rassen waren via selectie immers gemakkelijk op peil te houden.

In tegenstelling tot het X- en S-virus bleek dit virus veel minder gemakkelijk met besmet plantesap overgebracht te worden. Ook de verspreiding door de plant verloopt veel langzamer. Zelfs zes tot negen weken na de inoculatie kon het virus serologisch niet aangetoond worden. Ook uit de nateelt van de geïnoculeerde planten bleek de geringere verspreidingsmogelijkheid van het virus. Bij de meeste rassen leverde slechts een gedeelte van het totale aantal knollen een zieke plant op. Hetzelfde kon geconstateerd worden bij onze overbrengingsproeven met behulp van *Myzus persicae*. Dit virus moet dus gemakkelijk in toom te houden zijn en kan met behulp van de serologie wellicht geheel geëlimineerd worden.

De vraag of dit virus ook in het buitenland voorkomt kon reeds in 1957 worden beantwoord. In 1956 werd door BAGNALL, LARSON & WALKER[1] in Noord-Amerika het M-virus beschreven, dat in verschillende opzichten een grote overeenkomst vertoont met het door ons bestudeerde virus (o.a. gelijke serologische titer, een zeer geringe serologische verwantschap met het S-virus, mogelijkheid tot overbrengen op tomaat en niet op tabak en reactie van de aardappel). Dit werd aanleiding tot een uitwisseling van antisera en overbrengingsproeven op enkele voor M-virus geschikte indicatorplanten. Met zekerheid kon worden vastgesteld dat beide virussen identiek of zeer nauw aan elkaar verwant zijn. Dit werd reden om ook in ons land de naam M-virus te gebruiken, hoewel door KOEHLER in Duitsland reeds in 1942 een soortgelijk virus onder de naam K-virus werd beschreven, echter zeer veel minder volledig.

Van het M-virus konden in ons land verschillende stammen worden geïsoleerd, die symptomatologisch zeer uiteenlopen, echter serologisch naverwant zijn. Het paracrinkle complex van het aardappelras King Edward bleek zowel het S-virus als een M-virus te omvatten.

Ondanks de geringe serologische verwantschap tussen het S- en het M-virus kon er van een wederzijdse bescherming (premunitie) niets geconstateerd worden. Vooral ook bij deze proeven, die symptomatologisch maar al te dikwijls zeer moeilijk bewerkt kunnen worden, bewees de hulp van Lisse ons weer grote diensten.

[1] BAGNALL, R. H., R. H. LARSON & J. C. WALKER – 1956. Potato viruses M, S and X in relation to interveinal mosaic of the Irish Cobbler variety. Univ. Wisconsin Res. Bull. 198.

Hoewel het verleidelijk is om over dit virus uit te weiden, zal nog slechts iets medegedeeld worden over de verdeling ervan in de plant. Langs serologische weg kan deze gemakkelijk worden vastgesteld. Het is algemeen bekend dat de concentratie van het virus in de hoogste bladeren geringer is. Voor het M-virus geldt dit in sterke mate. Duidelijk bleek dit bij het aardappelras King Edward, dat zowel met het S- als het M-virus is besmet. In de hoogste bladeren kon het S-virus serologisch nog gemakkelijk worden aangetoond, het M-virus echter niet meer. Bij de bemonstering van de aardappelplanten wordt hiermede terdege rekening gehouden. Overigens is een en ander weer zeer afhankelijk van de plantesoort waarin het virus voorkomt. Zo bleek in tomaat het M-virus van King Edward in de hoogste bladeren wel serologisch aantoonbaar te zijn; voor andere stammen van het M-virus geldt dit echter weer in veel mindere mate.

Een ander aardappelvirus waartegen een bruikbaar antiserum kon worden verkregen is het aucubabontvirus (= F-virus). In de praktijk is hiervan niet veel gebruik gemaakt. Het onderkennen van de symptomen te velde geeft over het algemeen geen moeilijkheden, zodat dit virus door middel van stamboomteelt zo goed als volledig van het toneel verdwenen is. Toch is het goed dat er een antiserum tegen dit virus beschikbaar is. Zodra er aardappelrassen in verbouw komen, die voor dit virus zeer vatbaar en niet gevoelig zijn, krijgt het antiserum praktische waarde. Er is wel eens meer gedacht, dat een bepaald antiserum van weinig belang was, terwijl het later van de grootste betekenis bleek te zijn. Het Y-virus-antiserum geeft hiervan een voorbeeld.

In 1951 werd voor het eerst materiaal van het Y-virus naar Lisse gestuurd. Het „gewone" Y-virus werd gekozen, omdat dit op tabak wat duidelijker te onderkennen symptomen geeft dan het stippelstreepvirus. De tabaksplant werd namelijk ingeschakeld omdat het Y-virus in deze plantesoort een hogere concentratie bereikt dan in de aardappel. Op deze wijze kon toch slechts een antiserum met een lage titer worden verkregen. Via allerlei kunstgrepen gelukte het later de virusconcentratie te verhogen en de titer van het antiserum te verbeteren. Hierdoor werd het mogelijk met de agglutinatie-reactie te werken. Er kon worden uitgemaakt, dat het stippelstreepvirus serologisch zeer nauw verwant is aan het Y-virus, dit ondanks de afwezigheid van premunologische verwantschap.

Bij het toetsen van de vele monsters bleek al spoedig, dat het ziektebeeld van de grootste betekenis is voor de uitslag van het serologisch onderzoek. Aardappelrassen die reageren met mozaïek- of krinkelverschijnselen (of helemaal geen zichtbare reactie vertonen) gaven een duidelijke agglutinatie-reactie te zien, terwijl de met sterke necrose reagerende rassen negatief voor de dag kwamen. Dit bleek zowel voor de primair als de secundair zieke planten het geval te zijn. De sterke necrose (stippelstreep) is wellicht reden dat niet voldoende virushoudend sap verkregen kan worden. In ieder geval is het een gelukkige omstandigheid, dat juist de moeilijkst te beoordelen ziektegevallen serologisch onderzocht kunnen worden.

In de praktijk werd het Y-virus-antiserum weinig of niet toegepast; in grote gebieden van ons land komt dit virus slechts zeer sporadisch voor en symptomatologisch geeft het bij de meeste rassen ook geen grote moeilijkheden. De Stichting voor Plantenveredeling heeft er bij de pogingen tot het kweken van resistente rassen tegen dit virus dankbaar gebruik van gemaakt. Dat de betekenis van een antiserum plotseling in hoge mate kan toenemen blijkt uit het volgende.

In het vorig jaar (1957) werd een abnormaal hevige primaire Y-virusverbreiding geconstateerd, niet alleen op ons proefveld maar ook in verschillende praktijkvelden. Nog meer gold dit voor onze nabuurlanden. Hier deed zich nog de complicatie voor van het optreden van een z.g. „nieuwe" stam van het Y-virus, die in Duitsland werd beschreven onder de naam van „Rippenbräune". In tegenstelling tot de stammen van het „oude" Y-virus geeft deze „nieuwe" op tabak namelijk een verbruining en necrose van de nerven. Sinds het begin van de jaren vijftig heeft deze stam zich bij onze oosterburen enorm weten te verbreiden met als climax het jaar 1957. Het gevaarlijke van deze stam is, dat verschillende aardappelrassen hier veel minder duidelijk op reageren en dat ook de symptomen pas veel later verschijnen. Bij de selectie geeft dit grote moeilijkheden. Sommige rassen, o.a. Bona, vertonen helemaal geen afwijkingen, of pas op het eind van het groeiseizoen als de verspreiding van het kwaad al lang heeft plaats gevonden. Het gevolg is geweest, dat het ras Bona zo goed als volledig besmet is geraakt en overal als infectiebron fungeert. Het was dus onvermijdelijk, dat deze „nieuwe" stam in ons land zou doordringen. In 1957 werden aan de oostgrens bij het ras Record primaire Y-virus-verschijnselen waargenomen, die door hun zwakte afweken van de tot nu toe bekende hevige symptomen. Overbrengingen op tabak brachten het bewijs dat de „nieuwe" Y-stam in het spel was. Het materiaal werd direct ter beschikking gesteld aan Prof. VAN SLOGTEREN. Het jaar 1958 moest met een antiserum gewapend tegemoet getreden worden.

Intussen was echter gebleken, dat het oude Y-virus-antiserum ook gebruikt kon worden om de „nieuwe" stam aan te tonen. Serologisch bestaat er dus een grote verwantschap tussen het stippelstreepvirus, het oude Y-virus en het nieuwe, premunologisch echter niet. Zo werd het reeds in 1958 mogelijk het antiserum uit te buiten. Bij bepaalde rassen, weer speciaal aan de oostgrens van ons land, kon een geringe infectie met het „nieuwe" Y-virus worden vastgesteld. Alles zal in het werk gesteld moeten worden om verdere uitbreiding te voorkomen. Wat zich in andere landen heeft voorgedaan mag zich hier niet herhalen. Zonder antiserum zal dit niet gaan, in het bijzonder niet als ook hier een aantal aardappelrassen tolerant voor dit virus mocht blijken te zijn. Het mooiste zou zijn als een antiserum kon worden bereid, dat specifiek met de „nieuwe" Y-stam reageert. Dan behoefde ter verdere differentiatie de tabaksplant niet meer ingeschakeld te worden.

Zo blijft er altijd wel wat te wensen. Het tegen het stengelbontvirus verkregen antiserum is nog niet betrouwbaar genoeg. Er dienen nog antisera bereid te worden tegen verschillende stengelbontachtige afwijkingen. Een bruikbaar bladrol-antiserum is nog steeds niet verkregen. Aan deze problemen wordt echter hard gewerkt. Maar wat bereikt is, is een uniek voorbeeld voor de gehele wereld!

T. Pl.ziekten 64 (1958): 379–382

PLANT DOCTORING IS FUN

BY

CYNTHIA WESTCOTT

Twenty-five years ago I hung out a shingle with just three words, *The Plant Doctor*. So far as I know, I was the first professionally trained plant pathologist to go into private practice as a physician to home gardens. It has proved to be an occupation extraordinarily rich in satisfactions, not quite so rich in monetary rewards. Dr. BEIJER has suggested that a brief summary of my work would not be amiss in this issue dedicated to Prof. Dr. EGBERT VAN SLOGTEREN, whose plant doctor achievements have so greatly benefited the home gardeners that I serve.

After majoring in Botany at Wellesley College, I went on to graduate work at Cornell University, turning to Plant Pathology chiefly because I was offered work in that department. It was my great good fortune to work for Prof. H. H. WHETZEL, four years as a part-time teaching assistant, six years as a full-time research assistant for his studies in the genus *Sclerotinia*. This took me along to Europe where, in 1930, the WHETZELS and I spent an unforgettable spring in Holland, with headquarters at Prof. VAN SLOGTEREN's Bulb Laboratory. We arrived with the crocuses and stayed through the pageant of Darwin tulips, a wonderfully shining interval in my memories. I arrived beaming at the Laboratory every morning saying: "Mooi weer vandaag!", the only Dutch I learned because everyone spoke English so well.

Returning from Europe, we found that the Depression, then in full swing, meant the end of the research grant. There was a stop-gap job testing legume inoculants at the New Jersey Experiment Station but long before the second year was up I was ready to follow the advice Prof. WHETZEL had been giving his men students for years, without making any converts. I decided to be my own boss, to take on gardens as patients. After months of reading newspaper advertisements and visiting real estate agents in the suburban New York area I purchased an old house in Glen Ridge, New Jersey. It had enough land for test plots and roses became my guinea pigs for pesticide tests; first, because my personal research had been on rose diseases; second, because roses respond so spectacularly to regular weekly care and are the best possible advertisement for a plant doctor; third, because I can't live without roses. Neither can I live without Dutch bulbs but they are too healthy to be good guinea pigs.

No entomology had been included in my training and for a year or two another Cornellian, Dr. IRENE DOBROSCKY, was the entomological half of The Plant Doctor. By the time she left to be married I had learned enough insects from gardens and books to carry on alone.

Although I try to keep my patients healthy rather than to cure them after they are ill, I operate with about the same professional ethics as an M.D., with no advertising except by satisfied clients. That meant a rather slow start and for the first two or three years I did all kinds of odd jobs to eke out an income, including taking in roomers and even running a tea room one winter. Now the fluctuating plant doctor income is supplemented by writing and lecturing.

The fluctuation in income is due almost entirely to weather. Gardens are taken on for the season, and usually for the life of the owner. I can have only as many as can be visited often enough to prevent disease and with our unpredictable weather time cannot be scheduled economically. It is raining today, which is why I have time to write this article. It also rained yesterday and the day before that. A month ago it rained for six consecutive days with no interval when it was possible to get on any sprays. Early spring work, dormant spraying and pruning roses, was delayed for weeks by a series of unusual late-season snowstorms. So I have to have a limited list of clients, 45 at the moment, and a waiting list.

The first season I made the mistake of taking gardens at a definite contract price. Now I charge by the hour, enough to cover cost of an assistant and transportation, plus the cost of materials used in each garden. A client knows that I am doing only the most necessary things and I am not blamed for diseases that are too unimportant to justify the cost of treatment. In the early days I included feeding shade trees and spraying fruit trees in my work. Now I leave trees to commercial arborists. My client must have roses, so she will receive full value for the regular weekly visit I want to make, but while I am spraying roses and providing six months of bloom, I can take care of occasional problems as they arise on perennials and shrubs.

I test many new pesticides in many different combinations each year in my own garden but the rose spray that I continue to use for clients is quite old-fashioned. It contains ammoniacal copper and ferbam as fungicides, lead arsenate for beetles, rose-slugs and other chewing insects, and pyrethrum and rotenone for aphids. I prefer not to use any spray containing DDT regularly because of the increase in mite populations but I do add DDT in early autumn if leafhoppers are particularly numerous. I also prefer not to use a miticide all season but I add one to my spray every other week from mid-May to early August. Alternate weeks I add a soluble fertilizer, a foliar food to supplement the ground feeding I have done soon after spring pruning.

The copper in the combination spray gives sufficient control of powdery mildew except in locations with little air circulation. Then I add karathane as necessary, usually two or three applications in late summer. Although this spray is not an eradicant for blackspot once it has gotten a head start, it is an excellent protectant. I have taken over rose gardens that have been completely defoliated by blackspot and inside two years have brought them to the point where it is impossible to find a single lesion the whole season. The secret lies in regular applications and complete coverage of foliage, neither of which the ordinary gardener seems to accomplish. A good mulch is also an aid in preventing spread of blackspot because it reduces the amount of splashing of spores by rain.

The combination rose spray can also be used on most annuals and perennials in the garden to control aphids and many other problems but zineb is preferable for *Botrytis* blights and for rusts. Scale insects call for a dormant oil spray in March and sometimes malathion at the crawling stage. Borers in iris and lilacs, pine sawflies, holly and boxwood leaf miners, *Vespa* hornets on lilacs require carefully timed applications of DDT. Lindane is my best control for birch leaf miners, woolly aphids, and lacebugs on azaleas, rhododendron, and andromeda.

Instead of a power sprayer, I use a hand-pumped, twelve-gallon wheelbarrow sprayer, which can be carried around in the trunk of my Ford car and rather easily manipulated up and down garden steps and around crooked paths. My

assistant has a strong right arm, good for pumping the sprayer all day, unpacking and packing up the car a dozen or more times a day. He also can be trusted to mix up the necessary sprays at each garden while I inspect the plants and decide what is most needed on that particular visit.

During World War II, when men could not be spared for research on ornamentals, I spent two winters in Alabama working for the United States Department of Agriculture on azalea flower spot, also known as petal blight, a disease serious enough to close the big public azalea gardens throughout the South. It was caused by *Ovulinia azaleae* WEISS, a close relative of the Sclerotinias I knew so well from working with Prof. WHETZEL. Because it was a disease of blossoms only there had been little hope of controlling it by spraying. It was argued that no one would be willing to spray often enough and that spray residue would be too unsightly and injurious on the petals. I was convinced, however, from my long experience in spraying roses, that spraying would be profitable on azaleas and could be inconspicuous. I was able to demonstrate this rather spectacularly in Alabama. Three sprays a week with nabam, starting as the azaleas were coming into bloom and continued for a month or so, gave practically a hundred per cent control compared to unsprayed bushes with every flower completely collapsed, slimy, and brown. It was possible to spray half of a bush and not the other, with the line of demarkation as clear-cut as if drawn with a paint brush. In some of the big gardens spraying prolonged the azalea season as much as six weeks and with several thousand paid admissions daily at peak bloom the spraying program, still continued, returns very high dividends in proportion to the cost.

Writing and lecturing have been natural corollaries to plant doctoring for I learn so much every day in gardens to pass along to others. The first book, "The Plant Doctor", was a calendar of operations for the Northeast, based on notes in my doctor's casebook. As soon as that was in press, I started driving around the United States to see how much of what I said was good for the rest of the country. I have been travelling and learning and writing ever since, financing the trips by lectures, mostly to garden clubs.

The lecturing led to being appointed chairman of Garden Enemies for the National Council of State Garden Clubs and my first task was to represent the Council at a Quarantine Hearing in Washington. I could testify from personal experience that Dutch bulbs presented no threat to our American gardens. For years Prof. VAN SLOGTEREN has sent me a crate of bulbs each November, providing five months of bloom and bringing great joy to many people. The "prepared" hyacinths, potted up in soil, are ready for Christmas distribution. Some go to a friend in an apartment. When flowering is over, her daughter in the country ripens off the bulbs and plants them outdoors where they continue to bloom year after year. Before the hyacinths have finished on my windowsills, the tulips, brought in from a trench in the garden, have started to flower. Brilliant Star, Prince of Austria, General de Wet, Peach Blossom, van der Hoef, even Red Emperor, force beautifully in the living room. And before the indoor tulips have finished, the species have started to flower in front of the house, interrupting traffic as people stop for a closer look. For years, I planted tulips on the back hill and the children always came and picked them, claiming no one lived there. Now that they are in front and obviously belong to someone, not one flower has been picked or even run over with a tricycle. Even the tiniest tots

enjoy them, bending over to see if they are fragrant. Most of the later tulips are in the perennial border and long before the last of these are over the roses have started to bloom, to continue to December. Thus, with only two types of plants and almost no work, I have flowers for all but two or three weeks out of every year.

The roses are planted in replicate beds for spray tests but the general effect is rather beautiful. When I was chairman of the local Victory Garden Committee and wanted to demonstrate certain techniques in growing vegetables I used the roses as bait, inviting the whole town to a party in the garden, feeding the guests wartime punch and cookies. That led to an annual affair and this past Sunday we celebrated the plant doctor's eighteenth "Rose Day," with about eight hundred visitors from many states. All the hundreds and hundreds of cookies I had baked, nights after spraying gardens, and all the many gallons of punch disappeared.

A simple little book, "Anyone Can Grow Roses", has brought me hundreds of rose friends in this country and elsewhere. Writing it was pure pleasure, a holiday after the two big reference volumes, "The Gardener's Bug Book" and the "Plant Disease Handbook", and a smaller book, "Garden Enemies", which included only the more common insect pests and plant diseases. With so much new information constantly being published, most of my time has to be spent revising the reference books but another holiday from serious writing produced, last year, an autobiography, "Plant Doctoring Is Fun". In this book there are numerous references to the things Prof. VAN SLOGTEREN has done for me through the years and perhaps the best way to end this brief account of my life and work is to quote a few lines.

"I flew to Washington for the American Horticultural Congress already in session. Prof. VAN SLOGTEREN had come to America at this time to receive a citation for his outstanding work in providing healthy bulbs for American use...

Before returning to Holland Prof. VAN SLOGTEREN visited here for a couple of days. I invited in the neighbors and friends with whom I had shared his bulbs. It was an evening to treasure. By word of mouth and Kodachromes we made him know how much his good-will gesture had meant to so many and he brought us pictures of the Dutch bulb fields."

T. Pl.ziekten 64 (1958): 383–391

BENEFICIAL EFFECT OF VIRUS-DISEASED PLANTS ON NON-VECTOR INSECTS[1]

Met een samenvatting: Over het gunstige effect van viruszieke planten op insekten, die het virus niet kunnen overbrengen

BY

K. MARAMOROSCH

The Rockefeller Institute, New York, New York[2]

INTRODUCTION AND LITERATURE

Virus diseases of plants have been studied primarily because of their deleterious effects on plants. However, the history of variegated tulips infected with viruses (VAN SLOGTEREN, 1941; THUNG, 1949; DUBOS, 1958) presents a classical illustration of manifestations which have proved desirable at least from a commercial point of view. Several other cases of desirable virus infections are known to floriculturists, who have achieved beautiful effects of color breaking in different plants. Other desirable consequences of virus infections, manifested by attractive chlorotic or mottled patterns in leaves, can be seen in infectious chlorosis of *Abutilon* (ORLANDO & SILBERSCHMIDT, 1946; BAUR, 1904) and in the vein clearing of honeysuckle, *Lonicera japonica* (KUNKEL, 1958). The above cases illustrate "usefulness" of certain virus infections in respect to *Homo sapiens*. Do other species of animals also profit from virus infections of plants? There are several accounts in the literature, indicating increased longevity of insect vectors on virus-infected plants. SEVERIN (1946) observed an increased number of beet leafhoppers *Circulifer tenellus* BAKER on sugar beets infected with curly top virus. SEVERIN's study on the survival of insects on healthy and diseased plants seemed to indicate prolonged longevity on curly-top beets. However, his statistical analysis of the data showed that the difference was not significant.

KENNEDY (1951) found an increased longevity of aphids on virus-infected plants. It seemed that diseased plants provided a more favorable diet for the insect vectors.

A difficulty in evaluating these earlier observations and experiments lies in the fact that insects were always tested on plants which, with or without virus infection, provided adequate food for the tested animals. A different approach was therefore devised, using plants which under ordinary conditions were completely unsuitable for the animals.

Most leafhopper vectors of plant viruses can live on a wide range of food plants (OMAN, 1949). Examples of most omnivorous are *C. tenellus*, a vector of sugar-beet curly top, and *Macrosteles fascifrons* STÅL, a vector of aster yellows virus. An example of extreme limitation in the diet, on the other hand, is found in the two known insect vectors of corn stunt virus, *Dalbulus maidis* (DE LONG &

[1] Accepted for publication 4 August 1958.

[2] This work has been supported, in part, by Research Grant number E–1537 from the U.S. Public Health Service, National Institute of Allergy and Infectious Diseases.

Wolc.) and *D. elimatus* (Ball). These leafhoppers, as far as is known, are limited to only two food plants, *Zea mays*, the cultivated maize, and *Euchlaena mexicana* (teosinte), a wild grass believed to be an ancestor of maize. Numerous other plants were tested as possible sources of food for corn leafhoppers by Kunkel (1948), Niederhauser & Cervantes (1950, and personal communication) and by Barnes (1954). Although on *Calendula officinalis* adult *D. maidis* sometimes survive for four or five weeks and even deposit eggs (Kunkel, 1948), nymphs hatched from these eggs die within a day unless removed to maize plants. Because of their host specificity, corn leafhoppers were chosen for our experiments. A preliminary account of the surprising findings and about the striking differences in survival of insects, found in these tests, has been published (Maramorosch, 1958).

MATERIALS AND METHODS

Stock colonies of *D. maidis* and *D. elimatus* were maintained in an insectary on maize plants and adults and nymphs were available for experiments throughout the year. Standard techniques used for transmission of insects and for virus inoculations have been described in other reports (Maramorosch, 1951, 1953). The eastern strain of aster yellows virus, *Chlorogenus callistephi* var. *callistephi* was employed. China asters, *Callistephus chinensis*, of the variety Shell Pink, used in all tests, were grown from commercial seed and transplanted into pots of various sizes.

EXPERIMENTS AND RESULTS

Survival studies

a. Adult leafhoppers

Eighty young adult *D. maidis* from stock were caged on two severely diseased China aster plants; 80 insects from the same stock were confined to two healthy aster plants; a third group of 80 adults were kept on two maize plants. After 24 hours 45 insects on the healthy aster plants were dead. On the morning of the fourth day no survivors were found on the healthy asters. On the diseased asters, on the other hand, all 80 insects were accounted for on the fourth day. Prolonged survival was then tested and it was found that on the 42nd day of the test, 63 insects were still alive on diseased asters, as compared to 68 on maize. In these tests it was necessary to transfer controls on maize every 10 days to avoid overcrowding by their progeny, while leafhoppers on diseased asters were transferred only once, after four weeks.

b. Nymphs

The surprisingly high survival rate of adult corn leafhoppers on yellows asters prompted tests with nymphs which, according to observations on Calendula plants, were even more restricted in their food requirements. Fifty second-instar nymphs were caged on healthy aster plants, 50 on yellows asters, and 50 on maize plants. All nymphs on healthy asters were found dead after 48 hours. On diseased plants nymphs survived almost as well as on maize. They molted normally, as did the controls, and eventually most became adults. After 25 days, there were 49 adults on maize, and 42 adults on the yellows asters. Six nymphs, however, were still in the third instar stage and remained so until they died three

weeks later. As no inhibition of molting had ever been noticed during nine years of *D. maidis* breeding, the finding of an inability to molt was further studied.

One hundred second-instar nymphs were caged on diseased aster plants. After four weeks all but 16 insects became adults. The "retarded" nymphs, most in the third instar stage, were caged on a healthy maize plant. Rapid molting took place and 11 adults were obtained within a week. Five nymphs died in the fifth instar stage. Thus approximately 15% of corn leafhopper nymphs are unable to molt on diseased asters. Perhaps the new diet affects the synthesis of hormones in some, but not all, nymphs. The "retarded" nymphs retain their capacity to molt and do so when their natural food supply becomes available.

Breeding tests

Yellows asters on which adult male and female leafhoppers were caged for one month, were maintained for four additional weeks in the insectary to find whether eggs were deposited and whether nymphs would hatch. No progeny was obtained on yellows asters.

Were the physical conditions of the yellows aster plants unsuited for the depositing of corn leafhopper eggs, or did the new diet discourage mating? Two tests were made to find whether mating was curtailed or inhibited. In the first experiment five virgin females and five males were kept on yellows asters for three weeks. Then the males were discarded and the females confined for a single day to a maize plant. A total of 17 nymphs hatched, indicating that mating took place on yellows asters (*D. maidis* does not reproduce parthenogenetically).

In the second experiment, 10 females and 12 males, obtained from nymphs that molted on yellows asters, were kept for three weeks on diseased asters. Afterwards the females were caged for one day on a maize plant and discarded. Controls consisted of 10 females of comparable age, hatched, maintained and mated to 10 males on maize plants. A total of 22 nymphs were obtained from the aster-fed group, while the controls had 51 nymphs from eggs deposited within a single day.

In another test, 25 impregnated and already ovipositing females from maize plants were confined for two weeks to yellows asters. Although large numbers of nymphs hatched on maize previously colonized by these insects, none hatched on asters. This indicated that diseased aster plants, while providing an adequate diet for the survival of adult and nymphal stages were not adequate for breeding purposes. The corn leafhoppers were unable to have progeny on yellows asters under the conditions of the experiment. Although mating occurred, the insects were less prolific than were their counterparts on maize.

"Trained" insects

a. Adults

Twenty adult leafhoppers, maintained on yellows asters for five weeks, were transferred to healthy aster plants. After seven days 19 insects were still alive. Ten days later 14 survivors were accounted for. This surprising finding led to a number of tests with young adults as well as with nymphs, to determine the effect of "training" and the retention of the acquired ability to survive on healthy aster plants.

Did the feeding on yellows asters provide a chemical factor necessary for the survival of the insects and absent from healthy plants? If so, long maintenance on healthy aster plants should result in the depletion of this factor. It would also be expected that such a factor, acquired by feeding, would be depleted more rapidly after shorter feeding on yellows asters than after prolonged feeding. Several tests were made to gain insight into this matter.

Twenty five adult corn leafhoppers were confined to a yellows aster plant for seven days, then transferred to a healthy plant. Ten days later all the insects were alive. As controls 25 adults from stock maintained on maize were placed for 10 days on a healthy aster plant. All were dead on the fifth day. The 25 survivors were transferred from the healthy aster plant to maize plants for five days and later returned to healthy asters. This was done to find whether the acquired ability to feed on healthy asters would be retained or lost during the intervening feeding period on maize. It was found that the insects retained their acquired ability in spite of their intermittent maize diet: 15 insects were still alive on healthy aster plants after seven days, that is, on the 29th day of the test.

In another test the "interrupted training", that is, the intermittent feeding period on maize, was increased to 14 days. Nevertheless, the leafhoppers retained their acquired ability to feed on healthy aster plants. This test began with 25 insects, kept for seven days on a diseased aster plant, for 14 days on maize, and later on healthy asters. Twelve of 19 survivors transferred to healthy asters were still alive on the 31st day of the test. There was no evidence of a loss of the ability to survive on healthy aster plants.

b. "Trained" nymphs

Training tests of adults, that is, conditioning of the adults to feeding on healthy aster plants, was followed by similar tests with nymphs. Fifty second-instar and third-instar nymphs were confined to yellows asters. After seven days 38 surviving nymphs were transferred to maize for one week. On the 14th day 11 nymphs and 24 adults were separately caged on two healthy aster plants. The survival of adults was comparable to the survival in earlier tests in which the insects had acquired as adults the ability to feed on healthy plants. Twenty insects were alive on the 24th day. The survival of nymphs was poor, and only one adult and one nymph were found on the 24th day. This test showed that the conditioning effect ("training") persisted through the molting.

Virus retention

While the retention of a nutritional factor seemed an unlikely explanation for the acquired ability to feed on healthy aster plants, the retention of aster yellows virus by corn leafhoppers was given special attention. It has been known for many years that non-vector insects may acquire and retain plant viruses (Bennett & Wallace, 1938; Smith, 1941; Maramorosch, 1952). Aster yellows virus has been shown to be acquired by corn leafhoppers in short feeding periods. It has been recovered from the hemolymph of these non-vectors after 14, but not after seven days. Also, the virus has been retained through the molts. Could the conditioning of corn leafhoppers be connected with the acquisition of aster yellows virus? This virus causes in its insect host, the vector *M. fascifrons*, a chronic disease in which cells of a metabolic organ (fat body) are seriously affected (Littau & Maramorosch, 1958). It seemed therefore possible that the

virus could also exert pronounced effects on corn leafhoppers. Studies were undertaken to test this notion. Cytological studies, made by LITTAU, so far have revealed no changes in corn leafhopper fat bodies. These tests are being continued.

Several other approaches were available. The virus could be inactivated by heat treatments (KUNKEL, 1937), but heat treatment might also destroy other factors. Heat-inactivation tests are now in progress. Virus could be introduced from insect hemolymph by injection. Such tests, which eliminate feeding on diseased aster plants, at the same time introducing the aster yellows virus, are also in progress. The simplest approach, the acquisition of aster yellows virus by corn leafhoppers feeding not on diseased asters but on some other host of this virus, was tried. Thirty adult corn leafhoppers were confined on Calendula plants infected with aster yellows virus. After seven days 26 survivors were caged on healthy aster plants. Only two insects were alive on the third day. Although the result seemed to eliminate the virus as the cause of the conditioning effect, it still had to be ascertained that feeding on Calendula was comparable to feeding on yellows asters; previous data (MARAMOROSCH, 1952) on acquisition of virus were obtained by feeding *D. maidis* exclusively on asters. To check whether corn leafhoppers acquire the virus while feeding on diseased Calendula, the standard injection technique (STOREY, 1933; BLACK, 1941) was applied. Ten corn leafhoppers, maintained for 10 days on yellows Calendula and for an additional eight days on maize, were used to prepare an inoculum. Mechanical transmission was successful to *M. fascifrons;* this indicated that feeding on Calendula permitted the acquisition of the virus.

Although the results of the Calendula feeding suggest that the acquired ability of corn leafhoppers to survive on healthy aster plants was not caused by the acquisition and retention of aster yellows virus, the possibility of viral interaction could not be excluded entirely. Feeding tests on other hosts of the aster yellows virus, as well as heat inactivation and mechanical virus transmission, now in progress, should provide additional clarification.

Virus transmission tests

The leafhopper *D. maidis* belongs to the same family, subfamily and tribe as the common vector of aster yellows virus *M. fascifrons*. Although attempts were made in previous years to test the corn leafhopper as a potential vector of aster yellows virus, these earlier tests were limited to very short test feeding periods on asters. After the discovery of the conditioning effect, transmission attempts with "trained" insects were made. No transmission of aster yellows virus to China asters was obtained.

Following STOREY's classical experiments with *Cicadulina mbila* (STOREY, 1933) 20 trained corn leafhoppers were punctured with insect pins 20 days after they begun feeding on yellows asters. Subsequently the insects were tested on aster seedlings. No transmission was achieved.

Tests with D. elimatus

The second vector of corn stunt virus, *D. elimatus*, has a similarly limited and restricted diet as *D. maidis*. Tests with *D. elimatus* followed the same pattern as tests described above, and will therefore not be described in detail. The training results were similar with adults, but less successful with nymphs. It appears that

D. elimatus nymphs are even more particular than nymphs of *D. maidis* in their restriction to a maize diet. Transmission tests with punctured insects gave negative results.

Breeding attempts on Calendula

In view of KUNKEL's finding that *D. maidis* adults will often survive for long periods of time on healthy Calendula plants and deposit eggs, from which viable first-instar nymphs can be obtained, an attempt was made to breed corn leafhoppers on yellows Calendula. Against expectations, these breeding attempts failed completely. Even the survival of adults on diseased Calendula was unsatisfactory. These tests will be continued.

Conditioning on plants infected with other viruses

In a limited number of tests, adult *D. maidis* and *D. elimatus* were confined to crimson clover (*T. incarnatum*) plants infected with wound tumor and to sugar beets with curly top. Neither of these diseased plants provided adequate conditions for the survival of corn leafhoppers.

DISCUSSION

The finding that yellows asters provide an acceptable diet for nymphs and adults of corn leafhoppers, while healthy plants are unsuitable, open new experimental possibilities in an important field, which has received little attention in the past. Why are certain species of insects highly specific in their food requirements? What decides that maize plants provide a suitable source of food for *D. maidis*, while almost all other plants are unsuitable? What change from the healthy China aster to yellows aster plant makes it become suitable for corn leafhoppers, and what is the mechanism of the "memory", which permits feeding on healthy China asters? Further investigations on the adaptation of corn leafhoppers may answer these and many other questions and elucidate the fascinating problems of food specificity.

The conditioning effect, by which the insects become trained through a diet on yellows asters to accept healthy plants, is of great interest and significance. Probably, healthy aster plants are not poisonous, but only repulsive to corn leafhoppers. Presumably, the insects starve to death rather than try to feed on such plants. When the same insects are confined to yellows asters, they either become attracted to them or at least are no longer repelled. In consequence, they learn to accept the new, strange food plant. Moreover, the individuals that have learned to feed on yellows asters retain this acquired ability even through molts and over long periods spent on their conventional food plant.

We do not know why corn leafhoppers become conditioned by feeding on aster plants infected with the aster yellows virus. The virus might exert control over the plant-insect relationship by a variety of mechanisms. Virus acquired through feeding on diseased plants is retained in the body of the non-vector insects. The virus might act directly on some organs and tissues of the non-vector, as it does on the cells of the fat body of the vector, causing as yet unnoticed cytopathogenic changes. It is conceivable that viral multiplication in cells of corn leafhoppers may result in the induction of an enzyme. If an adaptation process (to feed on new hosts) is ordinarily inhibited by a chemical sub-

stance, the induced enzyme might destroy the inhibitor. The induction of a new enzyme might also give the corn leafhopper the ability to utilize the phloem sap of aster plants, which is otherwise unpalatable.

The virus might also act on the plant-insect interrelationship by conversion of the plant host. It might, on the one hand, cause the production of a substance essential for the survival of corn leafhoppers, or the removal of an inhibitor.

The virus could, on the other hand, influence the physicochemical nature of plant cells affecting the structure and composition of the cell walls. Such a change could turn an unsuitable plant into a suitable host for the insect.

The conditioning is of interest from a theoretical as well as a practical point of view. The training of corn leafhoppers provides a system for the study of the development of the conditioning phenomenon as related to the length of the training period. It also permits the study of the persistence of the acquired adaptation in relation to the length of training. Finally, conditioning can be studied in relation to various stages of infection of the plant.

From a practical standpoint, the phenomenon of conditioning through feeding on virus-diseased plants is of considerable importance to agriculture. Although aster yellows virus is a serious disease of many plants in over 50 families (KUNKEL, 1931), it may exert a beneficial effect as far as the survival of corn leafhoppers is concerned. For these animals, the altered diet may mean the difference between death and survival during periods when corn plants are unavailable. It is conceivable that more such "beneficial" relationships between arthropods and virus-diseased plants will be found when a search for them is made in nature or in the laboratory. Invasions of new host plants, particularly of important crops, by species of insects not previously known to feed on such plants, might be favored by such conditioning. This, in turn, could result in the wider spread of viruses, particularly of those that can multiply both in plants and in insect vectors.

SUMMARY

Earlier reports in the literature on increased longevity of insect vectors feeding on virus-infected plants were supported by new findings. Instead of using virus-free and virus-infected plants on which a certain vector ordinarily feeds, an unsuitable food plant was chosen. *Dalbulus maidis* leafhoppers could not be maintained on healthy China aster (*Callistephus chinensis*) plants. However, on asters severely infected with aster yellows virus, survival of adults and nymphs was nearly the same as on maize, their proper food plant. Adults and nymphs maintained on diseased asters, became conditioned to the feeding on the new host and could later be maintained also on healthy asters. No progeny was obtained on aster plants. It could not be established whether the beneficial effect of feeding on diseased plants was caused by acquisition of virus. Although retained by corn leafhoppers, aster yellows virus was not transmitted by them to aster plants. The prolonged survival of corn leafhoppers on healthy aster plants after a feeding period on yellows asters, is a conditioning phenomenon. The possible mechanisms involved in this conditioning, and the usefulness of the system for further studies are discussed. The significance of the findings is presented in relation to the invasion and spread in nature of insect pests and virus vectors.

SAMENVATTING

Resultaten van verschillende proeven geven steun aan het in de literatuur vermelde verschijnsel, dat insekten-vectoren op viruszieke planten langer in leven blijven, dan op gezonde planten. In deze proeven werden ongeschikte voedselplanten gekozen, in plaats van gezonde en viruszieke planten, waarop de vector zich normaliter voedt.

Individuen van de cicade-soort *Dalbulus maidis* konden zich niet handhaven op gezonde asterplanten (*Callistephus chinensis*). Op asterplanten, die hevig door aster yellows virus waren aangetast, konden de larven en imagines echter even goed leven als op maïs, hun eigenlijke voedselplant. Zij gewenden aan deze nieuwe voedselplant en konden zich later ook op gezonde asters handhaven. De cicaden plantten zich op asters evenwel niet voort.

Er kon niet worden vastgesteld, of het gunstige effect van de viruszieke planten op de cicaden werd veroorzaakt door het opnemen van virus.

Hoewel de dieren het virus opnamen en het bij zich hielden, waren zij niet in staat het op gezonde asterplanten over te brengen.

De mechanismen, die verantwoordelijk zouden kunnen zijn voor het gewennen aan de nieuwe voedselplant en de mogelijkheid van de bestudering van de problemen, die daarmee verband houden, worden besproken. Er wordt gewezen op de betekenis van het verschijnsel van gewenning voor de verbreiding van insektenplagen en virusvectoren.

REFERENCES

Barnes, D., – 1954. Biologia, ecologia y distribucion de las chicharritas, Dalbulus elimatus (Ball) y Dalbulus maidis (De L. & W.). Techn. Bull. No. 11. Agr. Progr. Rockefeller Foundation.

Baur, E., – 1904. Zur Ätiologie der infektiösen Panaschierung. Ber. dtsch. bot. Ges. 22: 453–460.

Bennett, C. W. & H. E. Wallace, – 1938. Relation of the curly-top virus to the vector, Eutettix tenellus. J. agr. Res. 56: 31–51.

Black, L. M., – 1941. Further evidence for multiplication of the aster yellows virus in the aster leafhopper. Phytopath. 31: 120–135.

Dubos, R. J., – 1958. Tulipomania and the benevolent virus. Monogr., N. Y. Acad. Sci. (in press).

Kennedy, J. S., – 1951. Benefits to aphids from feeding on galled and virus-infected leaves. Nature 168: 825–826.

Kunkel, L. O., – 1931. Studies on aster yellows in some new host plants. Contr. Boyce Thompson Inst. 3: 85–123.

Kunkel, L. O., – 1937. Effect of heat on the ability of Cicadula sexnotata (Fall.) to transmit aster yellows. Am. J. Bot. 24: 316–327.

Kunkel, L. O., – 1948. Studies on a new corn virus disease. Arch. ges. Virusforsch. 4: 24–46.

Kunkel, L. O., – 1958. Study on honeysuckle yellows. Rockefeller Inst. Bull., Ann. Rep. 1956–1957.

Littau, V. C. & K. Maramorosch, – 1958. Cytopathogenic effects of the aster yellows virus on its insect vector. Phytopath. 48:263.

Maramorosch, K., – 1951. Mechanical transmission of corn stunt virus to an insect vector. Phytopath. 41: 833–838.

Maramorosch, K., – 1952. Studies on the nature of the specific transmission of aster yellows and corn-stunt viruses. Phytopath. 42: 663–668.

Maramorosch, K., – 1953. Incubation period of aster-yellows virus. Am. J. Bot. 40: 797–809.

Maramorosch, K., – 1958. Healthy and yellows asters as food plants for corn leafhoppers. Abstr. Proc. 7th int. Congr. Microbiol., Stockholm, p. 260.

Niederhauser, J. S. & J. Cervantes, – 1950. Transmission of corn stunt in Mexico by a new insect vector, Baldulus elimatus. Phytopath. 40: 20–21.
Oman, P. W., – 1949. The nearctic leafhoppers. A generic classification and checklist. Ent. Soc. Washington, No. 3, p. 253.
Orlando, A. & K. Silberschmidt, – 1946. Estudos sôbre a disseminação natural do virus da clorose infecciosa des Malvaceas (Abutilon virus 1, Baur) e a sua relação com o inseto-vetor Bemisia tabaci (Genn.) (Homoptera-Aleyrodidae). Arquiv. Inst. biol. Sao Paulo 17: 1–36.
Severin, H. H. P., – 1946. Longevity or life histories, of leafhopper species on virus-infected and on healthy plants. Hilgardia 17: 121–133.
Slogteren, E. van & M. P. de Bruyn Ouboter, 1941. Onderzoekingen over virusziekten in bloembolgewassen. II. Tulpen I, Meded. Landbouwhogesch. Wageningen 45, 4.
Smith, K. M., – 1941. Some notes on the relationship of plant viruses with vector and non-vector insects. Parasitology 33: 110–116.
Storey, H. H., – 1933. Investigations of the mechanism of the transmission of plant viruses by insect vectors. I. Proc. roy. Soc. London B. 113: 463–485.
Thung, T. H., – 1949. Grondbeginselen der plantenvirologie. Meded. Landbouwhogesch. Wageningen 49, 4.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 392–395

ÜBER DIE TYPUS-ART DER GATTUNG *CYLINDROCARPON* WR. UND IHRE *NECTRIA*-HAUPTFRUCHTFORM[1]

Met een samenvatting: Over de typesoort van het geslacht Cylindrocarpon *Wr. en haar perfecte vorm* Nectria

VON

H. RICHTER und W. GERLACH

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Mykologie, Berlin-Dahlem

Die Tuberculariaceen-Gattung *Cylindrocarpon*, die der weit verbreiteten und phytopathologisch so ausserordentlich wichtigen Gattung *Fusarium* sehr nahe steht, wurde von WOLLENWEBER (1913) aufgestellt. Als Typus-Art dieser Gattung, die heute ausser den Nebenfruchtformen zahlreicher gehölzbewohnender, z.T. krebserregender *Nectria*-Arten auch einige bodenbewohnende Vertreter umfasst, hat *C. cylindroides* WR. zu gelten (1913, 1928). Dieser Pilz wurde erstmalig im Juli 1910 von LAUBERT auf absterbenden Zweigen von *Abies concolor* var. *violacea* in einer Baumschule des Kreises Pinneberg, Holstein, gefunden und 1913 von WOLLENWEBER als neue Art beschrieben. Ein Ascus-Stadium konnte damals weder auf dem Naturmaterial noch in Kultur beobachtet werden, doch wurde vermutet, dass *Nectria cucurbitula* (TODE) FR. die Schlauchform dieses Pilzes wäre (vgl. LAUBERT 1911).

Erst 1931 wurden die Beziehungen dieser *Cylindrocarpon*-Art zu einer *Nectria* geklärt, und zwar auf Grund eines Fundes von J. L. MEILKE in den U.S.A., der von S. M. ZELLER 1929 zur Bestimmung an WOLLENWEBER übersandt worden war. MEILKE hatte im Januar 1928 an Zweigen von *Abies grandis* in etwa 1200 m Höhe bei Alsea (Oregon) eine *Nectria* gesammelt, deren Konidienstadium mit dem *Cylindrocarpon* aus Holstein weitgehend übereinstimmte. Diese *Nectria* zeigte grosse Ähnlichkeit mit *N. cucurbitula* (TODE) FR., unterschied sich jedoch von dieser durch grössere Ascosporen und niedriger septierte, aber wesentlich längere und dickere Konidien des *Cylindrocarpon*-Stadiums. WOLLENWEBER (1931) fasste auf Grund dieser Unterschiede den Pilz als neue Varietät auf und benannte ihn *N. cucurbitula* (TODE) FR. var. *macrospora* WR. Ausser an den genannten Literaturstellen sind die beiden Funde in WOLLENWEBERS *Fusaria autographice delineata* (1917, 1931) unter den Nummern 475, 722 und 1070 beschrieben und abgebildet. Weitere Vorkommen dieses Pilzes sind uns seitdem aus der Literatur nicht bekannt.

Im Rahmen von Untersuchungen über Vertreter der Gattung *Cylindrocarpon*, die seit einigen Jahren im hiesigen Institut durchgeführt werden, wurde *C. cylindroides* zusammen mit seiner Hauptfruchtform ein weiteres Mal beobachtet. Da dieser Pilz anscheinend sehr selten und daher wenig bekannt ist, soll hier über diesen Fund näher berichtet werden, zumal damit *Nectria cucurbitula* (TODE) FR. var. *macrospora* WR. in ihrer Perithezienform erstmalig in Europa nachgewiesen sein dürfte.

[1] Eingegangen am 4. Juli 1958.

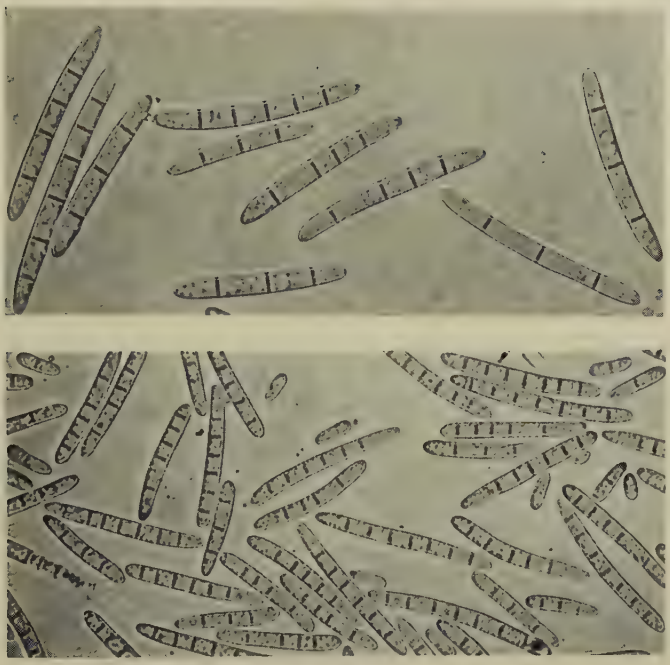


Abb. 1. Typische Makrokonidien von:
Oben: *Cylindrocarpon cylindroides* Wr.
Unten: *Cylindrocarpon cylindroides* var. *tenue* Wr. (500 : 1).
Typische macroconidiën van Cylindrocarpon cylindroides Wr. (*boven*) *en* Cylindrocarpon cylindroides *var.* tenue Wr. (*onder*). (*Vergroting 500* ×).

Am 15.6.1957 hat H. Richter in den Hochvogesen am Ufer des Lac de Longemer ein Aststück von *Abies alba* mit Hexenbesen von *Melampsorella caryophyllacearum* (DC.) Schroet. gesammelt, da auf ähnlichem Material gelegentlich die auf Koniferen häufige *N. cucurbitula* (Tode) Fr. oder ihr *Cylindrocarpon*-Stadium *C. cylindroides* var. *tenue* Wr. gefunden worden war. Ursprünglich konnten auf dieser Probe weder Fruchtkörper noch Sporenlager beobachtet werden. Nach einigen Tagen Aufbewahrung in der Feuchtkammer zeigten sich jedoch an mehreren Stellen kleine, sahnefarbige Sporodochien, die überwiegend unseptierte Mikro- und nur vereinzelt bis 3-septierte Makrokonidien enthielten. Der Pilz wurde isoliert, in Kultur genommen und als *C. cylindroides* Wr. bestimmt.

Im Januar 1958 – also nach etwa sieben Monaten – hatten sich auf dem Aststück von *Abies alba*, das feucht im Freien aufbewahrt worden war, zahlreiche reife Perithezien von *N. cucurbitula* var. *macrospora* gebildet. Der Pilz wurde nochmals – diesmal jedoch aus Ascosporen – isoliert. Diese Kultur stimmte in allen wesentlichen Merkmalen mit der aus Sporodochien vom Natursubstrat isolierten überein, so dass die Zugehörigkeit des *C. cylindroides* zu der genannten *Nectria* auch an Hand des hier vorliegenden Materials bestätigt werden konnte.

Die an der Vogesen-Herkunft beobachteten morphologischen Verhältnisse waren folgende:

Nectria cucurbitula (Tode) Fr. var. *macrospora* Wr.

Perithezien einzeln oder in kleinen Gruppen auf gemeinsamem Stroma gebildet, dunkelrot, rundlich-eiförmig, oben oft schwach zugespitzt, 430 × 380 (320–600 × 250 – 470) µ; Asci 97 × 9,7 (84 – 115 × 8 – 12) µ, fast zylindrisch, im oberen Drittel oft mehr oder weniger keulig verdickt, an der Spitze abgeflacht; Ascosporen meist einreihig angeordnet, hyalin, 1-septiert, länglich-ellipsoidisch, am Septum nicht oder nur schwach eingeschnürt, 15,9 × 5,3 (12 – 20 × 4,6 – 6,2) µ.

Unterscheidet sich von der Grundart durch grössere Ascosporen.

Stat. conid.: *Cylindrocarpon cylindroides* Wr.

Luftmyzel weiss bis blass gelblich, zart, locker, stellenweise durch eingelagerte Mikrokonidien pulvrig-struppig; Sklerotien spärlich, orangerot bis bräunlich, oft von Myzelrasen bedeckt; Pionnotes und Sporodochien blass, creme-sandfarbig bis gelblich-grauoliv; Mikrokonidien in falschen Köpfchen gebildet, zahlreich, meist einseitig zipfelig oder mit kurzer Ansatzpapille; Makrokonidien endständig, einzeln an verzweigten Trägern abgeschnürt, hyalin, meist 3–5-, seltener 6-, nur ausnahmsweise 7-septiert, gerade oder nur schwach gekrümmt, an den beiden Enden leicht zugespitzt.

0-sept.	7,7 × 3,2	meist 6– 9 × 2,8–3,5 (4–15 × 2,4–4,3) µ
1-sept.	21,0 × 4,2	meist 14–26 × 4,0–4,5 (11–32 × 3,4–5,1) µ
2-sept.	28,8 × 5,2	meist 22–35 × 4,7–5,6 (18–44 × 4,1–6,0) µ
3-sept.	41,0 × 5,3	meist 35–45 × 4,8–5,8 (24–61 × 4,2–6,8) µ
4-sept.	53,5 × 5,3	meist 45–60 × 4,8–6,0 (36–77 × 4,0–6,5) µ
5-sept.	57,8 × 5,6	meist 48–70 × 5,0–6,2 (41–78 × 4,3–6,7) µ
6-sept.	69,3 × 5,7	meist 62–75 × 5,0–6,2 (54–81 × 4,8–6,5) µ
7-sept.	75,4 × 5,9	meist 70–80 × 5,5–6,2 (65–85 × 5,2–6,5) µ

Chlamydosporen fehlen in der Regel.

Unterscheidet sich von *C. cylindroides* var. *tenue* Wr. durch längere, dickere und niedriger septierte Makrokonidien (Abb. 1). Einen Überblick über die Morphologie des Pilzes gibt Abb. 2.

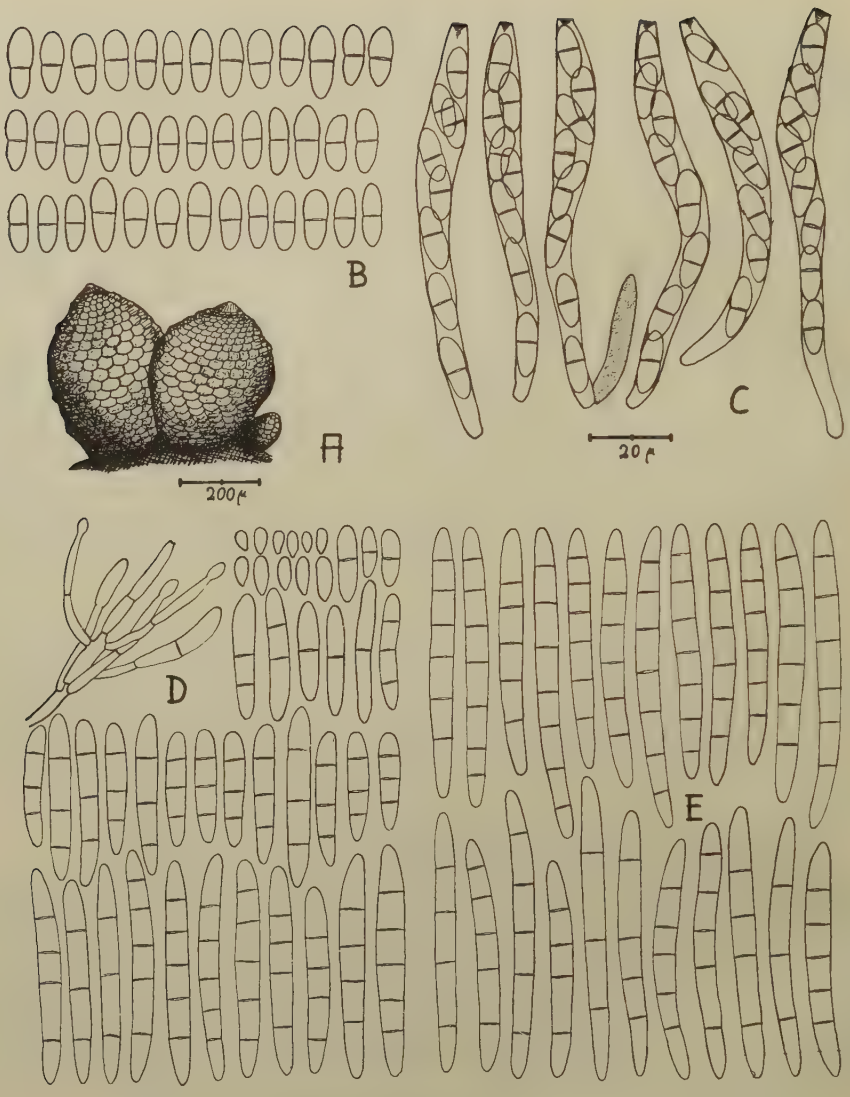


Abb. 2. *Nectria cucurbitula* (Tode) Fr. var. *macrospora* Wr.
A. Perithezien, B. Ascosporen, C. Asci.

Cylindrocarpon cylindroides Wr.
D. Konidienträger, E. Mikro- und Makrokonidien.
(A: 50:1, B–E: 500:1).

Nectria cucurbitula (Tode) Fr. var. macrospora Wr.
A. Peritheciën, B. Ascosporen, C. Asci.

Cylindrocarpon cylindroides Wr.
D. Conidioforen, E. Micro- en macroconidiën.
(*Vergroting A: 50 ×, B–E: 500 ×*).

Die für das *Nectria*-Stadium angegebenen Werte beziehen sich bei den Perithezien und den Schläuchen auf je 20 Messungen, bei den Ascosporen auf 100. An Konidien des *Cylindrocarpon*-Stadiums wurden dagegen von verschiedenen Substraten je nach Häufigkeit von den einzelnen Septierungen 50 bis 500 Sporen gemessen. Obwohl die gefundenen Werte je nach dem Substrat – der Pilz wurde auf insgesamt sieben verschiedenen Nährsubstraten kultiviert – beträchtlich voneinander abweichen, liegen die Sporengrössen der Vogesen-Herkunft doch alle innerhalb der in der Diagnose angegebenen Schwankungsbreite. Sie nähern sich von Fall zu Fall mehr den für die Holstein- oder für die Oregon-Herkunft genannten Werten. Besonders gut entwickelte und einheitliche Konidienproben wurden von sterilisierten Gerstenähren, Luzernestengeln und Fichtenzweigen erhalten, während auf Hafermehl-, Bierwürze- und Möhrendekoktagar die Mikrokonidien und die niedrig septierten Makrokonidien überwogen. Die aus Ascosporen isolierte Kultur fruktifizierte wesentlich besser als die aus Konidien, und die Sporen waren im Durchschnitt länger, dicker und höher septiert. Ein ähnliches Verhalten konnte auch bei einigen anderen *Cylindrocarpon*-Arten beobachtet werden.

Die phytopathologische Bedeutung von *N. cucurbitula* var. *macrospora* dürfte ebenso wie die der wesentlich häufiger vorkommenden, anscheinend auf Koniferen beschränkten Grundart gering sein. Bei seinem ersten Vorkommen in Holstein soll der Pilz zwar mehrere Jahre hindurch 2–3 m hohe *Abies* beständeweise vernichtet haben, allerdings nur gepfropfte Pflanzen, während die Sämlinge gesund geblieben waren. Auf Grund dieses Sachverhaltes erscheint der Verdacht begründet, dass damals andere Einflüsse, wie z.B. Unverträglichkeit zwischen Unterlage und Pfropfreis, die eigentliche Schadursache gewesen sind und der Pilz nur als Schwächeparasit oder harmloser Sekundärbewohner aufgetreten ist.

SAMENVATTING

In 1931 werd in de U.S.A. vastgesteld, dat *Nectria cucurbitula* (Tode) Fr. var. *macrospora* Wr. de perfecte vorm is van *Cylindrocarpon cylindroides* Wr. Thans is deze *Nectria*-variëteit in Europa in de Vogezen gevonden en kon opnieuw de samenhang met *C. cylindroides* door cultuurproeven vastgesteld worden. De variëteit *macrospora* verschilt van de oorspronkelijk benoemde soort door de aanwezigheid van grotere ascosporen.

LITERATUR

Laubert, R., – 1911. Auskunftserteilung in Mitt. kaiserl. biol. Anst. Land- u. Forstwirtsch., Berlin, 11: 56.

Wollenweber, H. W., – 1913. Ramularia, Mycosphaerella, Nectria, Calonectria. Phytopath. 3: 212 u. 225.

Wollenweber, H. W., – 1917. Fusaria autographice delineata. Ann. mycol., 15: 29.

Wollenweber, H. W., – 1928. Über Fruchtformen der krebserregenden Nectriaceen. Z. Parasitenk. 1: 152.

Wollenweber, H. W., – 1931. Fusarium-Monographie. Fungi parasitici et saprophytici. Z. Parasitenk. 3: 455, 468, 485 u. 491–492.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 396–398

NOTE SUR UNE MOSAÏQUE DE LA FÉVEROLE (*VICIA FABA*)[1, 2]

Met een samenvatting: Enige opmerkingen over een mozaïekziekte van de paardeboon (Vicia faba)

PAR

G. ROLAND

Station de Phytopathologie de l'État, Gembloux

Depuis 1955, nous avons à l'étude, pour la première fois en Belgique, une mosaïque de la féverole (*Vicia faba*). Nos essais ont montré qu'il s'agit d'un virus transmissible par jus à la féverole, au haricot (*Phaseolus vulgaris*, var. Saxa), au pois (*Pisum sativum*, var. Alderman, Perfection et Violetta) et au pois de senteur (*Lathyrus odoratus*). Jusqu'à ce jour, nos essais de transmission à des plantes autres que des légumineuses sont restés sans résultat. Sa température d'inactivation est située entre 50 et 60 °C (chauffage du jus virulent pendant 10 minutes, puis inoculation sur féverole). Voici les symptômes occasionnés par ce virus sur les plantes sensibles signalées ci-dessus:

Sur féverole, d'abord apparition de „vein clearing" et de „vein banding" sur les feuilles du sommet, puis ensuite mosaïque grave sur toutes les feuilles, les plus jeunes feuilles étant souvent boursouflées au niveau des plages vert foncé.

Sur haricot var. Saxa, taches nécrotiques rougeâtres le long des nervures des plus jeunes feuilles, accompagnées de jaunissement internervien et de déformation du limbe. Sur quelques plantes, on note de petites excroissances („enations") à la face inférieure de certaines feuilles.

Sur pois var. Alderman, mosaïque grave déformant les limbes; les plantes infectées sont plus petites que les plantes-témoins et elles meurent souvent prématurément.

Sur pois var. Perfection, on observe en général de la mosaïque et un ralentissement de la croissance. Dans certains cas, la plante jaunit rapidement et se dessèche.

Sur pois var. Violetta, on note au début une légère mosaïque nervienne jaunâtre sur les plus jeunes feuilles et dès ce moment les plantes infectées sont plus petites que les plantes-témoins. Quelques jours après, la plante jaunit puis meurt prématurément.

Sur pois de senteur, mosaïque jaunâtre occasionnant des boursouflures sur les feuilles; les plantes infectées ont une croissance ralentie.

Au cours des mois d'hiver 1957–58, nous avons étudié l'influence des conditions d'éclairage sur le développement de la maladie sur féverole. Les cinq séries d'essais exécutés au cours de cette période ont montré que l'éclairage artificiel prolongé était plus favorable à l'extériorisation des symptômes et à la multiplication du virus que l'éclairage naturel en serre.

Nous avons pu transmettre ce virus de féverole à féverole à l'aide du puceron

[1] Recherche effectuée avec l'aide de l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture.

[2] Accepté pour publication 8 août 1958.

Myzus persicae ayant piqué, d'une part, une à deux minutes et, d'autre part, 48 heures sur la plante malade puis ayant séjourné 48 heures sur les plantes saines. Nous avons utilisé 10 pucerons par plante à inoculer. Dans une autre expérience de transmission, les pucerons sont restés 48 heures sur une féverole mosaïquée, puis 48 heures sur une première série de cinq plantes saines, ensuite sur une deuxième et enfin sur une troisième série. Au départ nous avons placé 10 pucerons sur chaque plante de la première série saine. Lors du transfert des pucerons sur les féveroles de la deuxième puis de la troisième série, il ne restait plus respectivement que trois à six et un à cinq *Myzus persicae* par plante. Seules les cinq plantes de la première série ont réagi par de la mosaïque ainsi qu'une féverole de la troisième série. Le virus s'est donc comporté en général comme un virus non-persistant, sauf dans un cas; il est donc possible que sa persistance soit liée à certaines lignées de *Myzus persicae*.

Ajoutons qu'un petit essai fait avec 120 graines récoltées sur des féveroles mosaïquées ne nous a pas permis de constater de cas de transmission par la semence.

Nous avons réussi à préparer un anti-sérum en injectant du jus de féverole mosaïquée à un lapin. L'animal a reçu un total de 60 cc de jus centrifugé à 10.000 t./m. pendant 15 à 20 minutes. Les 60 cc ont été répartis entre neuf injections intraveineuses faites à deux jours d'intervalle. Ce sérum réagit positivement avec le jus de féveroles mosaïquées et avec une souche de Phaseolus virus 2[1].

Si l'on s'en rapporte à Quantz (1954) et à Smith (1957), dix virus, transmis par jus et, normalement, par pucerons, peuvent attaquer la féverole. De ces dix virus, il y en a neuf qui diffèrent du virus étudié ici par une ou plusieurs caractéristiques importantes. Voici ces neuf virus avec pour chacun d'eux les raisons pour lesquelles nous estimons qu'il est différent de notre virus:

Alfalfa mosaic virus: température d'inactivitation 62–70 °C; symptômes nécrotiques sur féverole.

Bean common mosaic virus: n'est pas transmissible au pois, ni au pois de senteur.

Red clover vein mosaic virus: symptômes nécrotiques sur féverole; non transmissible au haricot.

Cucumber mosaic virus: température d'inactivation 60–80 °C; plantes-hôtes appartenant à plus de 30 familles.

Nasturtium ring spot virus: „ring spot" sur feuilles inoculées de tabac.

Pea enation mosaic virus: non transmissible au haricot.

Pea mosaic virus: température d'inactivation 60–64 °C; non transmissible au haricot.

Pea mottle virus: symptômes nécrotiques sur féveroles.

Sunflower mosaic virus: température d'inactivation: 98–99 °C.

Dans l'état actuel de nos recherches et de nos connaissances, nous pensons pouvoir rattacher le virus étudié ici au „bean yellow mosaic virus" (Phaseolus virus 2) dont il pourrait être une variante nécrosante pour le haricot. Les raisons qui nous font actuellement rattacher notre virus au „bean yellow mosaic virus" sont basées sur les caractéristiques suivantes de ce dernier qui sont pratiquement semblables pour les deux virus: transmissible notamment à la féverole, au hari-

[1] Nous remercions à nouveau ici le Dr. L. Quantz de Braunschweig, Allemagne, qui a eu l'extrême obligeance de nous envoyer cette souche.

cot, au pois et au pois de senteur; température d'inactivation 50–60°C; virus non-persistant (SWENSON, 1954 et VAN DER WANT, 1954); réaction sérologique commune. Ajoutons, enfin, que des essais sont en cours pour vérifier s'il s'agit bien d'une variante du „bean yellow mosaic virus" qui, jusqu'à ce jour, n'a pas été signalé en Belgique.

SAMENVATTING

Voor de eerste maal werd in België een mozaïekziekte van de paardeboon bestudeerd. Het virus werd door sap en door middel van *Myzus persicae* overgebracht. Het heeft verschijnselen veroorzaakt op *Vicia faba*, op *Phaseolus vulgaris* var. Saxa, op *Pisum sativum* var. Alderman, Perfection en Violetta en op *Lathyrus odoratus*. Zijn inactiveringstemperatuur ligt tussen 50 en 60°C. Het blijkt dat het virus meestal niet-persistent is. Een antiserum werd bereid door gecentrifugeerd sap van zieke paardeboon in konijnen in te spuiten. Dit serum reageert met een stam van Phaseolus virus 2. Het schijnt dat het virus niet door het zaad van paardeboon kan worden overgebracht.

Voorlopig wordt het virus voor een variant van Phaseolus virus 2 gehouden.

LITTÉRATURE

QUANTZ, L., – 1954. Untersuchungen über die Viruskrankheiten der Ackerbohne. Mitt. biol. Bundesanst. Land- u. Forstwirtsch., Berlin-Dahlem 80: 171–175.

SMITH, K. M., – 1957. A Textbook of Plant Virus Diseases. London.

SWENSON, K. G., – 1954. Aphid transmission of a bean yellow mosaic virus. J. econ. Ent. 47: 1121–1123.

WANT, J. P. H. VAN DER, – 1954. Onderzoekingen over virusziekten van de boon (Phaseolus vulgaris L.). Diss. Wageningen.

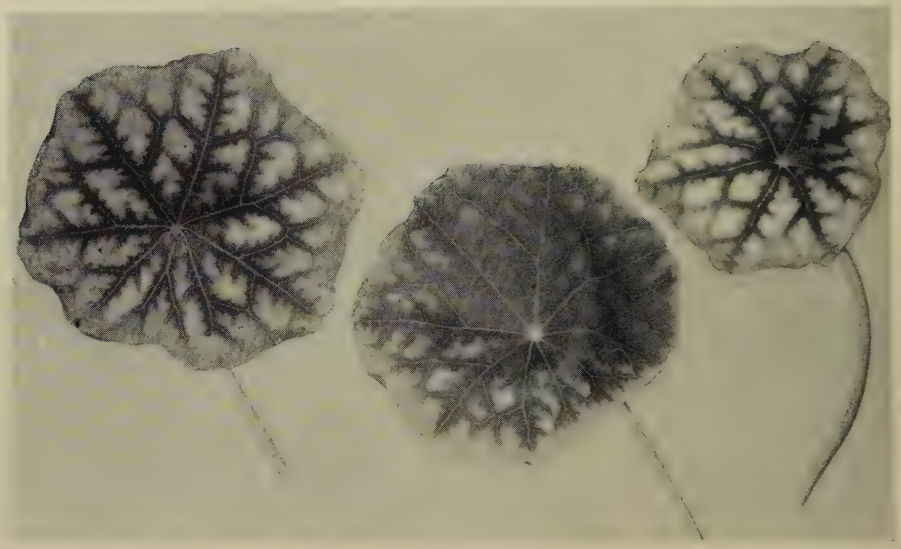


FIG. 1. *Tropaeolum majus fl. pl.* Golden Gleam met magnesiumgebrek.
Magnesium deficiency in Tropaeolum majus fl. pl. *Golden Gleam.*

T. Pl.ziekten 64 (1958): 399–401

MAGNESIUMGEBREK[1]

With a summary: Magnesium deficiency

DOOR

ANNA WEBER

Statens plantepatologiske Forsög, Lyngby

In Denemarken is magnesiumgebrek op twee verschillende typen grond gevonden: 1. op zandige, zure gronden en 2. op gronden met een hoog kaliumgehalte en vaak – misschien wel altijd – met een hoog calciumgehalte. De grond van het proefveld bij Statens plantepatologiske Forsög (Rijksinstituut voor Plantepathologie) is een grond van het laatst genoemde type. Deze grond is tot 1920 als tuingrond behandeld en heeft veel stalmest gekregen. Van 1920 tot heden werd er bijna nooit stalmest gegeven, doch tot 1953 betrekkelijk veel kunstmest. Toen de proeven met magnesium in 1953 begonnen, was het kalium- en fosforgehalte in deze grond hoog, twee- tot zevenmaal zo hoog als gewoonlijk op Deense landbouwgronden. De pH was ongeveer 7,5.

Op het proefveld werden in 1946 en later heel duidelijke magnesiumgebrekverschijnselen op tomaat waargenomen. Sedert 1953 zijn op vier verschillende veldjes proeven met magnesium genomen. Deze akkers werden jaar na jaar volgens hetzelfde plan behandeld, doch de ene helft van een akker werd slechts ieder tweede jaar behandeld. Als magnesiummeststof werd gewoonlijk technische $MgSO_4.7H_2O$ (verder als $MgSO_4$ aangeduid) gebruikt. De magnesium werd in de meeste gevallen in een 5 % oplossing over de gewassen gespoten of in hoeveelheden van 500 of 1000 kg per ha in het voorjaar over het land uitgestrooid. Het spuiten werd meestal vijf keer herhaald, zodat ook hier 500 kg per ha werd gebruikt.

In één of meer van de proefvelden werden tomateplanten van het Deense ras „Dansk Eksport" gekweekt, die altijd heel goed op een magnesiumgift reageerden. Verder werden ook andere land- en tuinbouwgewassen op de proefvelden gekweekt. Eigenaardig is het dat haver, waarbij men in Denemarken op zandige grond dikwijls duidelijke magnesiumgebrekverschijnselen waarneemt, op deze grond nooit gebreksverschijnselen vertoonde. Uien hebben ook nooit gereageerd, maar verschillende andere gewassen zoals aardappel (Alpha), koolraap, mosterd en selderij hadden duidelijke symptomen.

Tropaeolum is van bijzonder belang, omdat het een buitengewoon goede indicatorplant voor magnesiumgebrek is. Vier tot zes weken nadat het gewas op magnesiumarme grond is uitgezaaid, zijn zeer duidelijke symptomen waar te nemen. De bladeren krijgen een gele tot oranjegele kleur tussen de groene bladnerven (fig. 1). In het midden van de zomer zijn deze percelen op grote afstand duidelijk te onderscheiden van percelen, die op een of andere manier $MgSO_4$ hebben gekregen. Spuiten met 5 % $MgSO_4$ en in mindere mate met een 3 % oplossing, heeft als gevolg dat enige kleine bruine vlekken op de bladeren ontstaan, maar deze zijn te klein in aantal, doordat de gebrekssymptomen verdwijnen. In het najaar zijn de symptomen minder duidelijk, omdat een groot deel van de

[1] Aangenomen voor publikatie 8 augustus 1958.

bladeren met de ergste gebrekssymptomen verwelkt zijn en de nieuwe bladeren minder duidelijke symptomen bezitten. Tevens is de verminderde lichtsterkte van invloed, daar magnesiumgebrekverschijnselen altijd het duidelijkst zijn bij sterk licht.

Meer dan 30 rassen van *Tropaeolum* werden op magnesiumarme gronden als indicatorplanten getoetst. Alle rassen met donkere of bonte bladeren zijn minder goed bruikbaar. Het best voldeed *Tropaeolum majus fl. pl.* met groene bladen. Deze heeft steeds typische symptomen gegeven, sommige iets meer, andere iets minder, zonder dat een duidelijk verschil tussen de rassen onderling werd gevonden. Daarom werd in alle verdere proeven het ras „Golden Gleam" gebruikt, dat steeds zeer goed op een magnesiumgift heeft gereageerd.

Spuiten met 5 % $MgSO_4$ heeft op alle plantesoorten heel goed tegen gebrekssymptomen gewerkt, vooral als er vroeg met spuiten begonnen werd. Vooral in de eerste jaren heeft spuiten beter resultaat gehad dan het uitstrooien van 500 of 1000 kg per ha. Maar na enige jaren werd het uitstrooien even goed of zelfs beter bevonden dan spuiten (tabel 1). Vijfmaal spuiten met een 3 % oplossing van $MgSO_4$ is beter dan driemaal spuiten met een 5 % oplossing, maar het beste is vijfmaal te spuiten met een 5 % oplossing.

Tabel 1. Relatieve gemiddelde opbrengst van tomaten.
Kolom 1: opbrengst van twee proefvelden over drie jaar.
Kolom 2: opbrengst van een veld in 1957.
Kolom 3: magnesiumgehalte van de grond in een der akkers in het najaar van 1957, na behandeling van 1953 tot 1957.

Relative yield of tomatoes.
Column 1: relative yield per plot from two experimental fields over three years.
Column 2: relative yield per plot from one field in 1957.
Column 3: magnesium content of the soil in one of the fields in autumn 1957, after treatment from 1953 till 1957.

Behandeling *Treatment*	1 Verhoudingscijfer voor alle drie jaren *Relative yields for all three years*	2 Verhoudingscijfer voor een van de velden in 1957 *Relative yields for one of the fields in 1957*	3 Milligram Mg per 100 g grond, najaar 1957 *Milligram Mg per 100 g soil, autumn 1957*
Onbehandeld / *Untreated*	100	100	5,0
500 kg $MgSO_4$ per ha	142	156	10,3
1000 kg $MgSO_4$ per ha	157	181	14,0
Vijf maal met 5 % $MgSO_4$ gespoten, eerste keer drie weken na uitplanten *Five sprayings with 5% $MgSO_4$, starting three weeks after planting out*	162	163	9,5
Vijf maal met 5 % $MgSO_4$ gespoten, eerste keer een week na uitplanten . *Five sprayings with 5% $MgSO_4$, starting one week after planting out*	170	160	9,1

In het proefveld waar de ene helft ieder jaar en de andere helft ieder tweede jaar behandeld werd, om de nawerking na te gaan, is pas na de derde behandeling een duidelijke reactie zichtbaar geworden. Het toedienen van $MgSO_4$ heeft geen invloed gehad op het kaliumgehalte van de grond. In 1957 was dit gehalte in bijna alle percelen hetzelfde. Hoewel er sedert 1954 geen kaliumbemesting gegeven was, was het kaliumgehalte in 1957 slechts weinig lager dan in 1954. Wat het magnesiumgehalte betreft bleek er een groot verschil te bestaan.

In tabel 1 is het gemiddelde gehalte weergegeven van magnesium in milligrammen per 100 g grond van twee proefvelden genomen. Door de jaren is het magnesiumgehalte in alle behandelde percelen hoger en hoger geworden. Hoe lang het zal duren voordat men schade van te veel magnesium zal waarnemen, is moeilijk te zeggen. Misschien komt het nooit zover. Tot nu toe zijn er geen tekenen van schade gezien, ook niet op die percelen die vijf jaar lang ieder jaar 1000 kg $MgSO_4$ per ha gekregen hebben.

De proeven zullen nog enige jaren worden voortgezet.

SUMMARY

On a soil well supplied with potassium, and of pH about 7.5, several species of plants have shown very distinct magnesium deficiency symptoms. Treatment with $MgSO_4$ by spraying or by soil application gave very beneficial effects on the yield of tomatoes (table 1) and on the symptoms of several other plants. Soil treatment with $MgSO_4$ had no influence on the potassium content of the soil, but the magnesium content was greatly raised (table 1). *Tropaeolum majus fl. pl.* was shown to be a very good indicator plant for magnesium deficiency (fig. 1).

T. Pl.ziekten 64 (1958): 402–410

DE MICROFLORA OP HET BLAD VAN *BETA VULGARIS*[1, 2]

With a summary: The microflora on the leaf of Beta vulgaris

DOOR

L. C. P. KERLING

Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten", Baarn

INLEIDING

Het begrip „fyllosfeer" werd ongeveer gelijktijdig in de literatuur ingevoerd door LAST (1955) en door RUINEN (1956), onafhankelijk van elkaar. LAST stelde een onderzoek in naar de wijze van ontwikkeling van *Sporobolomyces roseus* KLUYVER et VAN NIEL, een gist, die in grote aantallen in de lucht en ook op bladeren kan voorkomen. Hij bracht de gist van jongere en oudere bladeren van tarwe en gerst in reincultuur en berekende uit het verkregen aantal kolonies de dichtheid van de gistpopulatie op het bladoppervlak. Het aantal kolonies nam toe bij het ouder worden van het blad en bereikte een maximum na de dood daarvan. Ook steeg het aantal kolonies met toenemende relatieve vochtigheid en temperatuur. LAST stelde voor, de naaste omgeving van het bladoppervlak, waarin zich deze flora ontwikkelt, met de naam „fyllosfeer" aan te duiden, in analogie met de „rhizosfeer", de omgeving van de wortel, waarin eveneens een „niet-parasitaire, hoog ontwikkelde flora" te vinden is. LAST kon geen relatie vaststellen tussen *Sporobolomyces* en het blad.

RUINEN onderzocht populaties van microörganismen, levend op bladeren van tropische planten, waarbij zij tot de ontdekking kwam, dat de bacteriën en gisten, die deel van de epifytische flora uitmaken, tot een klein aantal soorten behoren. Zij veronderstelde een betrekking tussen het blad en een *Beyerinckia* spec., een stikstof-bindende bacterie, oorspronkelijk als bewoner van tropische gronden bekend (DERX, 1950): enerzijds zouden de stoffen, die via de cuticula door het blad worden uitgescheiden een goede voedingsbodem voor de bacterie vormen, anderzijds zou het blad profiteren van de vastgelegde stikstof. Op grond van de nauwe relatie, die tussen de bewoners en het blad zou bestaan, duidt RUINEN dit typische milieu eveneens met de naam „fyllosfeer" aan.

Naast overeenkomst is er tussen de begrippen fyllosfeer en rhizosfeer toch ook wel een onderscheid op te merken. De bewoners van de fyllosfeer zijn beter te vergelijken met de epifytische flora levend op het worteloppervlak dan met de flora die zich ontwikkelt in de onmiddellijke nabijheid van de wortel, in de zone, die onder invloed van de wortelexcreten staat. Het is juist deze ruimte, buiten de wortel, die door GARRETT (1956) rhizosfeer genoemd wordt. Hoewel de term fyllosfeer hiermee niet geheel analoog is, bestaat er m.i. toch geen bezwaar met deze term de ruimte aan te geven onmiddellijk grenzend aan het bladoppervlak, waarop zich een epifytische vegetatie bevindt, levend in de invloedssfeer van het blad.

Behalve bij gisten en bacteriën zou men ook bij bladbewonende fungi een

[1] Aangenomen voor publikatie 8 augustus 1958.

[2] Aan het onderzoek werd meegewerkt door de Heer P. M. A. VAN ECK, biol. drs., Mej. L. P. M. TIMMERMANS en de Heren J. L. GEROLD en W. H. A. HEKKING, allen biol. cand.

betrekking tot het blad kunnen verwachten. Saprofyten zullen zich b.v. kunnen voeden met de exudaten er van. Dat bladeren stoffen uitscheiden is reeds lang bekend. MES (1953) kon dit met moderne methoden opnieuw aantonen, terwijl volgens WILL (1955) in regen, afstromend van naalden van *Pinus*-soorten, organische stoffen aanwezig waren. BROWN (1922) en later KOVACS & SZEÖCKE (1956) vonden soms een stimulerende, soms een remmende invloed, uitgaande van exudaten op de ontkieming van schimmelsporen.

Om de betrekkingen van epifytische schimmels tot het blad te leren kennen, is het wenselijk tot een inventarisatie te komen, zoals dit o.a. geschied is door RISHBETH & MEREDITH (1957) voor de flora op dennenaalden. Eerst dan kan vastgesteld worden of de flora typisch is voor het onderzochte blad en wat de relatie tussen deze beide is. Het doel van dit voorlopig onderzoek was een inzicht te verkrijgen in de schimmelflora, die zich in de loop van een seizoen op een blad ontwikkelt en zo mogelijk van een enkele vertegenwoordiger de relatie tot het blad na te gaan.

MATERIAAL EN METHODIEK

Voor het onderzoek werd de voederbiet gekozen, *Beta vulgaris* L., in verband met een lopend onderzoek over het parasitisme van *Phoma betae*. De bladeren werden betrokken van een veld in Uden (N.B.), ver van bewoningen gelegen, beplant met het ras Jaapjes Groenkraag. De zaaitijd was eind april 1957. Het bietenperceel, op laag gelegen humeuze zandgrond, was ingesloten door een weiland en door velden, respectievelijk beplant met kool, stoppelknol en voederbiet. Van planten uit het midden van het veld werden steeds de buitenste bladeren verzameld, respectievelijk op 21 mei, 11 juni, 2 en 24 juli, 18 augustus, 8 september en 6 oktober 1957. De bladeren werden in plastic zakken verpakt en enkele uren later in het laboratorium te Baarn onderzocht. Op 21 mei waren de eerste bladeren juist groot genoeg om voor het onderzoek gebruikt te kunnen worden. Ook werden op 2 november 1956 bietebladeren (ras Klein Wanzleben) onderzocht, afkomstig uit de laboratoriumtuin, waarbij de flora respectievelijk aanwezig op een volwassen groen, een vergelend en een reeds verwelkt blad vergeleken werd.

De bladeren of bladgedeelten met bekend oppervlak werden eerst in een bekende hoeveelheid steriel water gedurende twee uren gespoeld, waarna telkens drie oogjes, eveneens met bekend volume, van het 1 : 2 of 1 : 4 verdunde spoelwater uitgestreken werden op een voedingsbodem in een petrischaal. Per serie werden meestal drie soorten voedingsbodems gebruikt: kersagar, aardappelagar en mout- of havermoutagar, telkens 10 schalen met dezelfde voedingsbodem. Er ontwikkelden zich kolonies van schimmels, gisten en bacteriën. Na telling werden de schimmels in reincultuur gebracht en gedetermineerd, evenals enkele van de meest voorkomende gistsoorten. Ook werd een gedeelte van de gespoelde bladstukjes op agar uitgelegd, nadat zij in deeltjes van 2 tot 4 mm^2 verdeeld waren, om de daarop aanwezige sporen zoveel mogelijk gelegenheid te geven afzonderlijke kolonies te vormen. Op deze wijze kwamen de schimmels te voorschijn, die hechter op het bladoppervlak gekleefd waren en door spoelen niet vrij gekomen waren, terwijl ook eventueel inwendig aanwezige schimmels konden uitgroeien. Tenslotte werd uit de tellingen het totaal aantal organismen aanwezig per cm^2 blad berekend.

Om na te gaan of er ook organismen in het inwendige van het blad aanwezig

waren, werd getracht oppervlakkig aanklevende sporen of mycelium te elimineren door de bladstukjes uitwendig te ontsmetten met 0,1 % sublimaatoplossing gedurende 1, 2 of 3 minuten. Een zeker resultaat valt op deze wijze echter niet te bereiken: indien zich geen organismen meer ontwikkelen na uitleggen op agar, kan men veronderstellen, dat er geen binnendringers waren. Het is echter ook mogelijk, dat men die door de ontsmetting gedood heeft. Omgekeerd mag men, wanneer er nog organismen na de ontsmetting te voorschijn komen, evenmin tot hun aanwezigheid in het blad besluiten: de ontsmetting kan te licht geweest zijn om alle epifyten te doden. Het aantal bacteriën en gisten, dat zich uit de alleen gespoelde en uit de ontsmette stukjes ontwikkelde, was echter zo klein, dat de schattingen van de aantallen per cm^2 blad, gebaseerd op de isolaties uit het spoelwater er niet door beïnvloed werden. Als voorbeeld van de berekening moge het volgende geval dienen: 1646 cm^2 blad werd in 520 cc water gespoeld. Het spoelwater werd vervolgens tot 1 : 4 met steriel water verdund. Hiervan werden 30 oogjes met een totaal volume van 0,18 cc op 10 schalen met aardappelagar uitgestreken. Er ontwikkelden zich o.a. 40 schimmelkolonies. Per cm^2 bevonden zich dus $\frac{4 \times 520}{0{,}18} \times 40 : 1646 = \pm 280$ schimmelsporen of stukjes mycelium. Deze waren over de boven- en onderkant van het blad verdeeld.

RESULTATEN

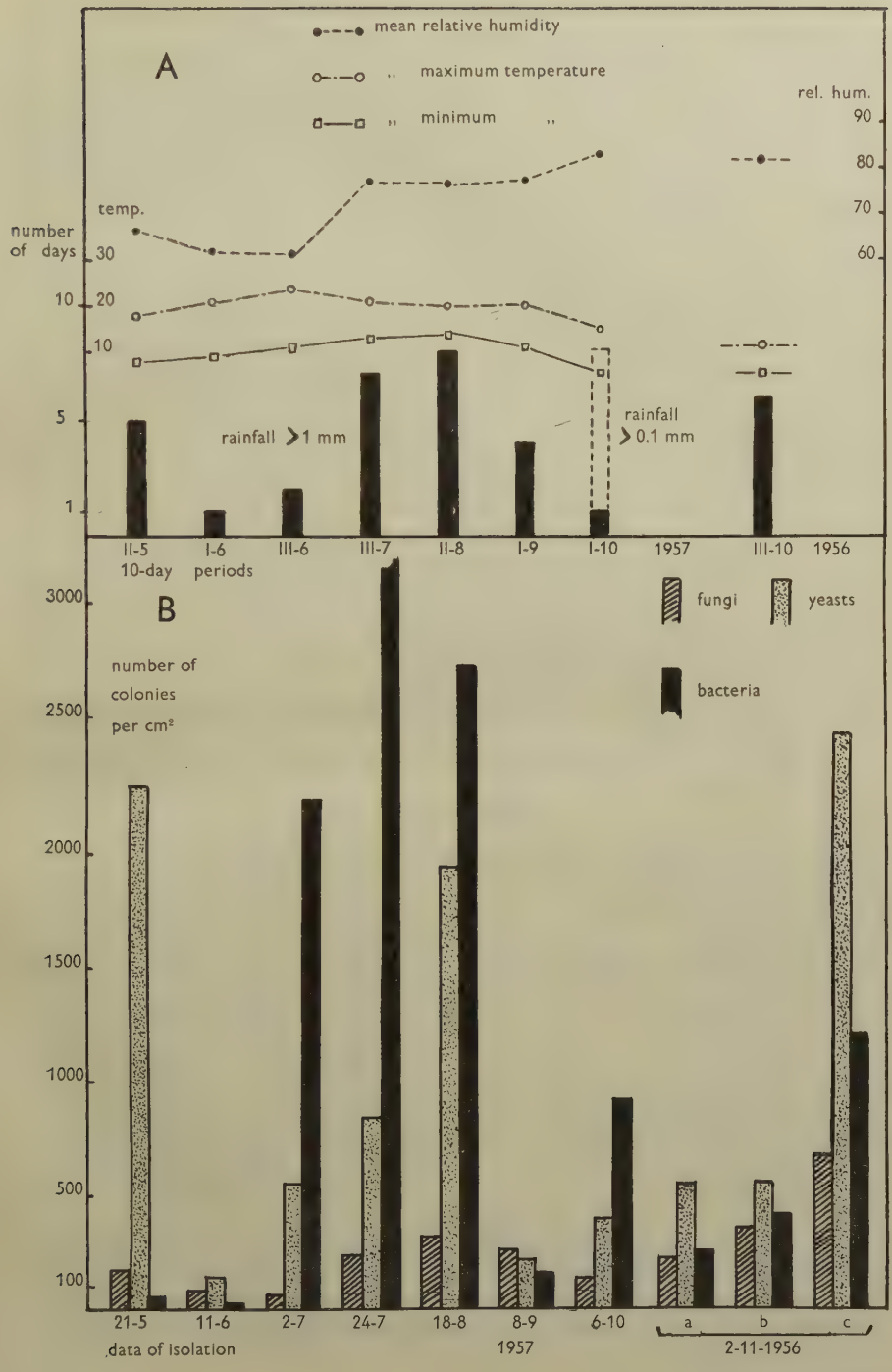
Op de zure kersagar ontwikkelde zich een groter aantal schimmelkolonies dan op de andere bodems, waarop de schimmelgroei vaak geremd werd door gisten en bacteriën. Ook werden soms andere soorten op kersagar dan op de niet-zure bodems aangetroffen, hetgeen waarschijnlijk op toeval berust zal hebben. In fig. 1 zijn de gemiddelde aantallen schimmelkolonies per cm^2 aangegeven, die zich op alle voedingsbodems ontwikkeld hadden, terwijl de gemiddelde aantallen gisten en bacteriën per cm^2 blad berekend zijn naar hun ontwikkeling op de niet zure bodems.

Reeds op 21 mei was het aantal gisten groot, waarna op 11 juni het aantal organismen plotseling zeer laag bleek te zijn. Dit moet waarschijnlijk toegeschreven worden aan het schoon spoelen der bladeren door langdurige zware regen, juist voor het plukken der bladeren gevallen. Op 2 juli werden veel bacteriën gevonden en ook was het aantal gisten weer toegenomen. De temperatuur, aan deze plukdatum voorafgaande, was abnormaal hoog geweest, met een maximum van 35°C. Gedurende augustus steeg het aantal organismen, waarschijnlijk onder invloed van de toenemende relatieve vochtigheid en de nog steeds vrij

---

FIG. 1. A Gemiddelden van regenval, maximum- en minimumdagtemperaturen en relatieve vochtigheid over de decaden voorafgaande aan de datum, waarop onderzoek plaats vond of waarin dit geschiedde.
B Overzicht van het aantal schimmel-, gist- en bacteriekolonies geïsoleerd per cm^2 blad van de voederbiet, *Beta vulgaris*.
a: groen blad; b: vergelend blad; c: verwelkt blad

A *Mean rainfall, maximum and minimum temperatures and relative humidity of the periods of 10 days preceding the date of isolation or of the 10-day periods in which the isolations were carried out.*
B *The number of colonies of fungi, yeasts and bacteria isolated per cm^2 leaf blade of the fodder beet* Beta vulgaris.
a: *green leaf;* b: *yellowing leaf;* c: *wilted leaf*


A
mean relative humidity
,, maximum temperature
,, minimum ,,
rel. hum.
90
80
70
60
temp.
number of days
30
20
10
10
5
1
rainfall >1 mm
rainfall >0.1 mm
II-5
10-day
I-6
periods
III-6
III-7
II-8
I-9
I-10
1957
III-10
1956
B
fungi
yeasts
bacteria
number of colonies per cm²
3000
2500
2000
1500
1000
500
100
21-5
11-6
2-7
24-7
18-8
8-9
6-10
a
b
c
data of isolation
1957
2-11-1956

hoge gemiddelde temperatuur. Het aantal organismen op de bladeren geplukt op 8 september bleek plotseling veel lager te liggen, terwijl toch in de eerste decade van die maand de relatieve vochtigheid hoog was en de temperatuur nog slechts weinig verschilde van die in augustus. Vermoedelijk was ook nu weer het blad grotendeels schoon gespoeld door vele regenbuien. Begin oktober trad er weer een stijging in het aantal kolonies op tijdens een periode met bijna elke dag een regenval variërend tussen 0,1 en 1 mm: niet zwaar genoeg om de organismen af te spoelen, maar wel voldoende om een hoge luchtvochtigheid te handhaven.

Het aantal organismen op de bladeren uit de laboratoriumtuin, geplukt op 2 november, varieerde met de ouderdom der bladeren: op de sterk verwelkte bladeren was het aantal beduidend groter dan op de jongere. Uit het spoelwater en de bladstukjes werden in totaal 721 schimmelkolonies geïsoleerd, behorend tot ongeveer 34 soorten (tabel 1). Vele isolaties konden echter niet tot fructificeren gebracht worden. 51 % van de schimmels bleek *Cladosporium herbarum* te zijn; 15,8 % was *Alternaria tenuis*. *C. herbarum* kwam gedurende het gehele seizoen voor, maar naar verhouding werden er later meer kolonies uit het blad geïsoleerd dan uit het spoelwater. Waarschijnlijk had het mycelium zich vaster op het bladoppervlak gehecht dan in het begin van het seizoen. Het aantal kolonies van *A. tenuis* liep op van 4,4 % van het totale aantal in augustus tot 28,8 % in september, waarbij deze schimmel eveneens een grotere affiniteit tot het blad ging vertonen. Misschien waren deze schimmels zelfs het blad binnengedrongen; na uitwendige ontsmetting van bladstukjes gedurende drie minuten had er in mei en juni geen schimmel-ontwikkeling plaats, terwijl de genoemde soorten in oktober na een dergelijke ontsmetting nog wel te voorschijn kwamen, tezamen met *Epicoccum-*, *Phoma-* en *Stemphylium*-soorten.

TABEL 1. Schimmel- en gistsoorten, geïsoleerd uit de fyllosfeer van bladeren van de voederbiet, *Beta vulgaris*[1].

Species of fungi and yeasts isolated from the phyllosphere of leaves of the fodderbeet, Beta vulgaris.

Schimmels/*Fungi*

Alternaria tenuis auct.
Aspergillus echinulatus (DELACR.) THOM et CHURCH
A. repens (CORDA) DE BARY
A. versicolor (VUILL.) TIRABOSCHI
Botrytis cinerea PERS.
Cephalosporium spec.
Cladosporium cladosporioides (FRES.) DE VRIES
C. herbarum LINK
C. macrocarpum PREUSS
Cytospora spec.
Epicoccum nigrum LINK
Fusarium spec.
Gliomastix convoluta (HARZ) MASON
Isaria farinosa (DICKS.) FR.
Penicillium brevi-compactum DIERCKX
P. citrinum THOM
P. corylophilum DIERCKX
P. diversum RAPER et FENNELL
P. meleagrinum BIOURGE
P. notatum WESTL.
P. oxalicum CURRIE et THOM
P. spinulosum THOM
P. tardum THOM
Pestalozzia ramulose V. BEYMA
Phialophora spec.
Phoma betae (OUD.) FRANK
P. herbarum WESTEND.
Phomopsis spec.
Pullularia pullulans (DE BARY) BERKH.
Rhizoctonia spec.
Stemphylium consortiale (THÜM.) GROVES (et SKOLKO
Torula spec.
Trichoderma koningii OUD.
T. lignorum (TODE) HARZ

Gisten/*Yeasts*

Sporobolomyces roseus KLUYVER et VAN NIEL
Cryptococcus albidus (SAITO) SKINNER
Cryptococcus laurentii (KUFF.) SKINNER

[1] Aan de medewerksters van het Centraal Bureau voor Schimmelcultures onze dank voor de verleende hulp: Mej. A. C. STOLK was zo vriendelijk de Penicillia te determineren, Mej. W. CH. SLOOFF de gisten.

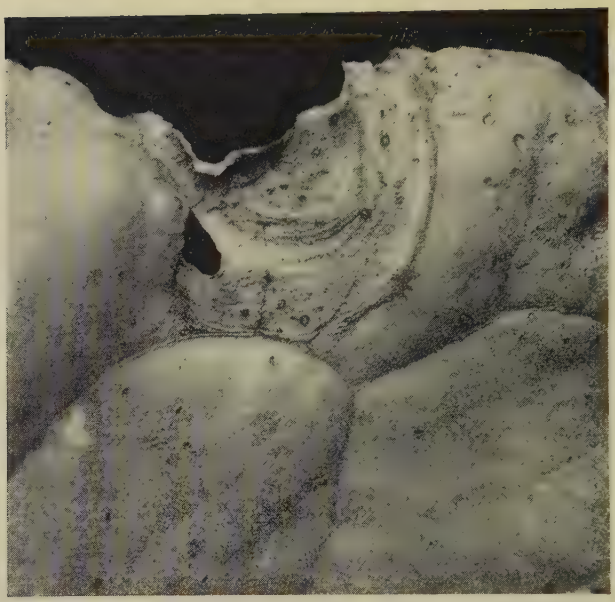


FIG. 2. Een grote bladvlek en enige kleinere op een blad van een voederbiet na inoculatie met een sporensuspensie van *Phoma betae*.

A large leaf spot and some smaller ones on a leaf of a fodder beet after inoculation with a spore suspension of Phoma betae.

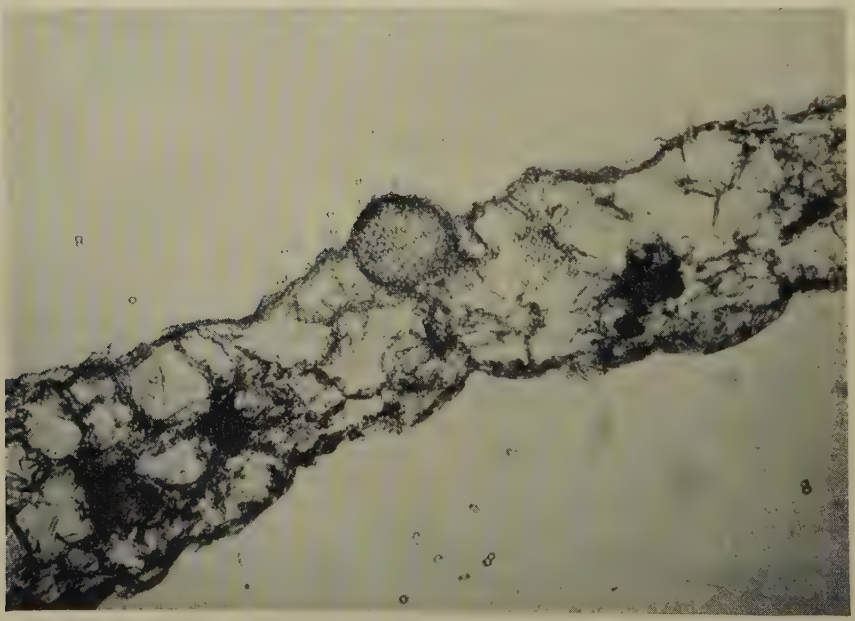


FIG. 3. Dwarse doorsnede van een bieteblad aangetast door *Phoma betae*. Pycnidium met sporen aanwezig.

Section of a leaf spot caused by Phoma betae *on the leaf of a fodder beet. Pycnidium with spores present.*

Van deze soorten is *Phoma betae* een bekende parasiet van de biet. De relatie van deze schimmel tot het bieteblad werd nu nader bestudeerd door bladeren van het ras „Klein Wanzleben" met een sporensuspensie van *Phoma betae* te inoculeren. In de maand juli, toen de maximumtemperatuur ongeveer 20 °C was, ontstonden er reeds na enkele dagen kleine vlekjes, die zich verder ontwikkelden tot 12 dagen na de inoculatie de typische *Phoma*-vlekken optraden, 2 tot 5 cm groot, met een necrotisch centrum en concentrische ringen. Pycnidiën waren aanwezig (fig. 2 en 3). Later in het seizoen verliep het infectieproces echter beduidend langzamer: na een inoculatie op 14 augustus waren de vlekjes na 14 dagen nog maar nauwelijks zichtbaar. De maximale dagtemperatuur was in die periode 17 °C. De schimmel was wel binnengedrongen, want na desinfectie van het blad gedurende zeven minuten was herisolatie van *Phoma* nog mogelijk. De inoculatie op 26 september liet sommige bladeren na 27 dagen nog zonder symptomen. De maximale dagtemperatuur was nu 11 tot 13 °C. Wel kon *Phoma* na spoelen uit de bladeren opnieuw worden geïsoleerd, maar niet meer na ontsmetten van het blad gedurende twee minuten. Waarschijnlijk was de schimmel latent op het bladoppervlak aanwezig gebleven, hetzij als sporen, hetzij als mycelium. Het is niet duidelijk of het lager worden van de temperatuur, dan wel het ouder worden van het blad hiervan de oorzaak was.

Tijdens de incubatietijd leeft *Phoma* dus in de fyllosfeer. Men kan aannemen, dat dit verblijf, afhankelijk van de omstandigheden, varieert van enkele dagen tot vele maanden.

BESPREKING

Zoals te verwachten was, staat de flora van het bieteblad sterk onder invloed van de omstandigheden. In overeenstemming met de resultaten door Last verkregen, nam ook hier het aantal organismen toe met het ouder worden van het blad, met het stijgen van de luchtvochtigheid en van de temperatuur. Sterke fluctuaties traden echter op, zoals na regens, die de bladeren schoon spoelden. Waarschijnlijk zullen er binnen de perioden van drie weken, gelegen tussen de data van het onderzoek, nog vele andere niet geregistreerde schommelingen opgetreden zijn.

Verreweg de meeste der geïsoleerde organismen staan bekend als saprofyten, die uit de lucht of met opspattende aardedeeltjes op de bladeren terechtkomen. Het zijn ubiquisten, die zich op velerlei substraat thuis voelen en die zich ook met het exudaat van het bieteblad kunnen voeden. Om na te gaan inhoeverre er een affiniteit bestaat tussen de hier gevonden organismen en de biet, zou men de flora van bietebladeren uit een andere omgeving moeten kennen of de flora van een andere plantesoort uit dezelfde omgeving. Daarbij zouden ook de gisten en bacteriën betrokken dienen te worden.

Phoma betae heeft als parasiet een nauwe relatie tot het blad, evenals de biotrofe, vaak aanwezige *Uromyces betae*, waarvan de kiembuizen waarschijnlijk snel na de ontkieming het blad zullen binnendringen. *Phoma* kan daarentegen lang in de fyllosfeer aanwezig blijven, terwijl de saprofyten *Cladosporium*, *Alternaria* en misschien ook *Epicoccum* pas toegang tot het oudere of het reeds afgestorven blad verkrijgen. Ook *Cryptococcus albidus*, een pectine-hydroliserende gist, zal eerst na de dood van het blad de kans krijgen de celwanden aan te tasten.

In de ruimte, nauw grenzend aan de bladoppervlakte, waar de omstandigheden

door het metabolisme van het blad beïnvloed worden, de fyllosfeer, leven dus bij *Beta vulgaris* zowel zuiver saprofytische schimmels, zoals Penecillia, als andere, die op het ouder wordende blad tot een parasitische levenswijze overgaan en echte parasieten met een langere of kortere incubatietijd.

SAMENVATTING

De flora aanwezig op de oppervlakte van een bieteblad (ras Jaapjes Groenkraag) werd nagegaan. Uit het aantal geïsoleerde kolonies van bladstukjes van bekende afmeting, werd het aantal aanwezige schimmels, gisten en bacteriën per cm^2 blad berekend. Dit aantal bleek sterk afhankelijk van de weersomstandigheden, maar het nam in het algemeen toe met het stijgen van de temperatuur en de vochtigheid en met het ouder worden van het blad (fig. 1). De schimmelsoorten en enkele van de meest voorkomende gisten werden gedetermineerd (tabel 1). *Cladosporium herbarum* en *Alternaria tenuis* kwamen het meeste voor, vooral in het najaar. Deze schimmels vertoonden grote affiniteit tot het blad; *Phoma betae* kon zelfs het blad binnendringen na een kortere of langere incubatietijd (fig. 2 en 3). Deze flora leeft in de invloedssfeer van het blad, waarvoor de term „fyllosfeer" in de literatuur werd ingevoerd.

SUMMARY

Last (1955) recognized a flora mainly consisting in *Sporobolomyces roseus* Kluyver & van Niel on the leaves of wheat and barley, which he compared with the highly developed non-parasitic flora always occurring near to living roots. In analogy with the name "rhizosphere" used for the zone of influence of the root, he proposed "phyllosphere" for that of the leaf, where also a typical flora was found.

Ruinen (1956), who studied the epiphyllic population in the tropics, found a bacterium, *Beyerinckia* spec., occurring on the leaf surface of a great number of tropical plants species. Independently of Last, Ruinen also proposed the name "phyllosphere" for this characteristic milieu, the site of intense microbial activity. She emphasizes, however, the mutual relation between the microorganisms living in the phyllosphere and the leaf itself: the cuticular excretion of the leaf may serve as a nutrient medium and on the other hand the nitrogen, fixed by *Beyerinckia*, might be taken up by the leaf.

There is, however, more reason to compare the flora on the leaf surface with that on the surface of the root than with the flora in the rhizosphere, i.e. the zone near to the root as distinguished by Garrett (1956) and others. Among the organisms living on the root surface saprophytic fungi and others with a more or less parasitic character may be found. In analogy these types may also occur on leaves.

The following questions may be asked:

1. Which organisms can be detected on the leaf surface of a certain plant species?
2. Are they characteristic for this leaf or do they occur by chance?
3. What is the relation between these organisms and the leaf?

For a better understanding of these questions leaves of *Beta vulgaris* L. were chosen. Special stress was laid on the fungi occurring on the leaf surface. The

leaves were taken from a field, remote from houses, planted with fodder beets, variety Jaapjes Groenkraag, sown in the end of April 1957. On the following dates green leaves, all developed during May, were gathered and examined: May 21, June 11, July 2 and 24, August 18, September 8 and October 6, 1957. On November 2, 1956 the flora of 3 leaves, variety Klein Wanzleben was compared, i.e. an old green leaf, a yellowing and a wilted one. Whole leaves or pieces of them with a known surface were rinsed in a known volume of sterile water. Drops of this water were also plated on agar; pieces of the rinsed leaves were also plated out. The latter were cut up into smaller pieces of about 1 mm^2 before plating. From the total number of colonies which developed, the number of fungi, yeasts and bacteria per cm^2 leaf surface were calculated (fig. 1).

There appeared to be a correlation between the numbers of organisms present on the leaf surface and the environmental conditions. The pouring rain on the 11th of June, just before the leaves were picked, had cleaned the leaves before their arrival in the laboratory. During August the total number of organisms increased, probably in consequence of the increasing relative humidity. The numbers decreased with the lowering of the temperature during September. During the first 10-day period of October the humidity was exceptionally high with a daily rainfall over 0.1 mm but less than 1 mm, which may explain another increase. However, fluctuations in the number of organisms must have been considerable, far higher than could be stated by a 3-weekly survey.

Most of the fungi identified, approximately 34 species appeared to belong to the soil inhabitants or they were known ubiquists, also occurring in the air. The fungal flora on the leaf may depend largely on spores, blown on to the surface by chance or splashed up by rain.

The only parasite present was *Phoma betae* (OUD.) FRANK (table 1). The relation of this fungus to the leaf blade was studied: inoculations with a spore suspension resulted in small necrotic flecks on the leaves. In August, when the maximum temperature was about 20 °C, they enlarged to big leaf spots with concentric rings and pycnidia (fig. 2 and 3). This stage was reached after 12 days. In September the incubation period was much longer. In October, when the maximum temperature had lowered to 11° to 13 °C, the fungus was still present on the leaf after 27 days without having entered it. It still belonged to the surface flora. Older leaves and especially wilted ones showed a greater number of organisms on the surface than younger ones. Moreover a higher percentage of the total number of fungi present could not be washed off by rinsing of the leaves at the end of the season. Also the mycelium of *Cladosporium herbarum* LINK and that of *Alternaria tenuis* NEERGAARD seemed to be narrowly connected with the epidermis. The latter may even have penetrated into the leaf, as after seven minutes of surface sterilisation with mercurichloride 0.1 % this fungus could still be isolated. The saprophytic fungi, such as *Cladosporium* and *Epicoccum* may play a role in destroying the leaf after its death.

After counting the colonies, no further attention was paid to the groups of yeasts and bacteria. From the yeasts only a few isolates were identified, as most colonies seemed the same. *Sporobolomyces roseus*, found by LAST on wheat leaves, was also frequent on those of beet. *Cryptococcus albidus*, a pectin-hydrolyzing yeast, may destroy the cell walls of the dead leaves. From the fungal flora it could not be stated, if among the species were typical phyllosphere inhabitants of *Beta vulgaris*. To answer this question it would be necessary to analyse the

flora on *Beta*-leaves originating from another site or to analyse the epiphyllic flora of another plant species in the same environment. Only the relation of *Phoma betae* to the leaf seemed more clear: a shorter or longer time after germination it became instead of an epiphyllic fungus a parasitic one.

The term "phyllosphere" may be used for that site of the leaf surface, where environmental conditions are largely determined by the leaf. The inhabitants may display a saprophytic or a more parasitic character. They may be more or less specific and more or less able to multiply on the leaf.

LITERATUUR

Brown, W., – 1922. Studies in the physiology of parasitism VIII. On the exosmosis of nutrient substances from the host tissue into the infection drop. Ann. Bot. 36; 101–119.

Derx, H. G., – 1950. Beyerinckia, a new genus of nitrogen-fixing bacteria occurring in tropical soils. Proc. kon. Ned. Akad. Wetensch. 53: 1–10.

Kovacs, A. & E. Szeöke, – 1956. Die phytopathologische Bedeutung der kutikulären Exkretion. Phytopath. Z. 27: 335–349.

Last, F. T., – 1955. Seasonal incidence of Sporobolomyces on cereal leaves. Trans. Brit. mycol. Soc. 38: 221–239.

Mes, M. G., – 1953. Excretion of fosfor and other mineral elements by leaves under the influence of rain. S. Afr. J. Sci. 50: 167–172.

Rishbeth, J. & D. S. Meredith, – 1957. Surface microflora of pine needles. Nature 179: 682.

Ruinen, J., – 1956. Occurrence of Beyerinckia species in the "phyllosphere". Nature 177: 220–221.

Will, G. M., – 1955. Removal of mineral nutrients from tree crowns by rain. Nature 176: 1180.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 411–418

BINDING VAN VIRUSREMSTOFFEN AAN KLEIMINERALEN [1]

With a summary: Binding of virus-inhibiting substances on clay minerals

DOOR

T. H. THUNG en J. DIJKSTRA
Laboratorium voor Virologie, Wageningen

INLEIDING

In zijn onderzoek over de werking van een uit anjer verkregen stof, welke de virusinfectie remt, kwam RAGETLI (1957) tot de opvatting, dat het mechanisme van deze remming berust op het blokkeren van bepaalde plaatsen nabij het bladoppervlak, welke noodzakelijk zijn voor de totstandkoming van de virusinfectie. Aan deze plaatsen, receptoren genoemd, zouden de virusdeeltjes zich moeten hechten, alvorens vermeerdering van het virus optreedt. Naar aanleiding van de mededeling van VAN DER WANT (1952) over de reversibele binding van virusdeeltjes aan kleimineralen werd in het hieronder beschreven onderzoek nagegaan in hoeverre deze kleibestanddelen van invloed zijn op de werking van de door RAGETLI beschreven remstof uit anjer.

MATERIAAL EN METHODEN [2]

Als uitgangsmateriaal werd tabaksnecrosevirus (TNV) uit bonen (*Phaseolus vulgaris* L. var. Beka) gebruikt, dat afkomstig was van wortels van *Bouvardia humboldtii* hort. Voor de proefnemingen werden White Burley tabak en de Beka-variëteit van boon geïnfecteerd met een TNV-preparaat. Dit preparaat werd bereid door bladeren van zieke boneplanten uit te persen, nadat deze een nacht bij –20 °C waren bewaard, het perssap daarna gedurende 4 minuten tot 50 °C te verhitten en het neerslag af te centrifugeren. De bovenstaande vloeistof bevatte het virus. De remstof werd op overeenkomstige wijze uit gezonde anjerplanten, welke uit zaad gekweekt waren, verkregen.

Van de kleimineralen werden illiet met zure en montmorilloniet met basische eigenschappen toegepast. Om andere ionen uit het illiet te verwijderen, werd dit zo lang met 0,2 n HCl behandeld volgens de methode van FAVEJEE (1951), dat het oppervlak van de deeltjes verzadigd was met H^+-ionen, en tenslotte uitgewassen met water.

Bij 10 ml virussuspensie werd 0,5 g kleimineraal gevoegd, gedurende 1 à 2 uur geschud en daarna afgecentrifugeerd. Grotere hoeveelheden klei in 10 ml suspensie zwellen te sterk en vormen een compacte massa. Niet gepubliceerde proeven hebben aangetoond, dat kleimineralen geen abrasieve werking hebben.

Voor de inoculatieproeven werd de bladhelften-methode toegepast, waarbij van zes bladeren van White Burley tabak de ene helft met virus, gemengd met

[1] Aangenomen voor publikatie 19 september 1958.
[2] De schrijvers betuigen hun dank aan de Heer M. BIJL voor zijn waardevolle, technische hulp.

anjersap of met virus, gemengd met anjersap en klei en de andere helft met virus alleen geïnoculeerd werd. Van boneplanten werden de tegenover elkaar staande bladeren als proef- en controlebladeren gebruikt. Alle inoculaties werden met carborundum verricht, dat na de behandeling onder de kraan werd afgespoeld.

In tegenstelling tot de gelijktijdige behandeling van het viruspreparaat met kleimineralen werd in andere proeven de klei later toegevoegd door de reeds geïnoculeerde bladeren, hetzij voor de tweede keer met klei te inoculeren, hetzij in de kleisuspensie te dompelen en vervolgens onder de kraan af te spoelen.

Na twee dagen werden de ontstane vlekken geteld en deze aantallen gesommeerd. In bijgaande tabellen zijn alleen de sommen opgegeven, waarbij de controle-aantallen steeds het eerst zijn vermeld.

PROEVEN MET MENGSELS VAN VIRUS, REMSTOF EN KLEIMINERALEN

Om na te gaan in welke concentratie het anjersap het virus juist onwerkzaam maakt, werden enige proeven met uiteenlopende verdunningen van anjersap uitgevoerd. Het bleek, dat de verlangde concentratie bereikt wordt bij een verdunning van 1:50. Bij de proeven werd in het vervolg 9,8 ml virussuspensie aan 0,2 ml anjersap toegevoegd.

De virussuspensie was na toevoeging van montmorilloniet basisch en na toevoeging van H-illiet zuur. Zowel de basiditeit als de aciditeit is des te sterker als de desbetreffende klei niet eerst wordt afgecentrifugeerd. Het gaat bij deze proeven om een traject van pH 4,5 tot pH 8,0.

Opvallend is het, dat in een belangrijk aantal gevallen toediening van klei, zowel van montmorilloniet als van H-illiet, een sterke stimulering geeft. Deze stimulering komt niet alleen tot uiting bij toediening van klei bij het inoculum, maar ook bij toevoeging aan het mengsel van inoculum en anjersap. Blijkbaar wordt de remstof onwerkzaam gemaakt (tabel 1).

Opmerkelijk is deze werkzaamheid van de klei bij een toediening na inoculatie, zowel met het inoculum alleen, als met inoculum plus anjersap.

HET SELECTIEF BINDEN DOOR KLEIMINERALEN

Om na te gaan in hoeverre de kleimineralen uit een mengsel van virus en remstof één van de twee bestanddelen selectief binden, werd aan het mengsel klei (montmorilloniet of H-illiet) toegevoegd. Een lage virusconcentratie, een verdunning van 1:100, werd gebruikt, omdat eerder uitgemaakt was, dat het virus volledig geïnactiveerd werd bij toediening van anjersap in dezelfde concentratie als bij de voorgaande proeven. Het bleek, dat door de kleitoevoeging een belangrijk geringere remming optrad, zodat aangenomen mocht worden, dat een aanzienlijk deel van de remstof weggenomen was.

Aan een andere hoeveelheid van de bovenstaande vloeistof werd weer virus in de verdunning 1:100 toegevoegd om te kunnen nagaan in hoeverre nog aanwezige vrije remstof inactiverend werkt. Ten slotte werd anjersap alleen met klei geschud en afgecentrifugeerd; de bovenstaande vloeistof werd met virus in de bovengenoemde verdunning gemengd en geïnoculeerd. De resultaten van deze proeven zijn in tabel 2 samengevat. Deze proeven demonstreren, dat de inactiverende werking van anjersap door de toegevoegde klei belangrijk wordt verminderd; in verschillende gevallen treedt zelfs stimulering op. Dit wijst niet

TABEL 1. Aantal vlekken bij inoculatie met tabaksnecrosevirus gemengd met anjersap en/of met montmorilloniet of H-illiet.

Number of local lesions from inoculations with tobacco necrosis virus mixed with carnation sap and/or with montmorillonite or H-illite

	Proef 1/*Experiment 1*			Proef 2/*Experiment 2*			Proef 3/*Experiment 3*		
	c:t*	stimulering *stimulation*	remming *inhibition*	c:t*	stimulering *stimulation*	remming *inhibition*	c:t*	stimulering *stimulation*	remming *inhibition*
NICOTIANA TABACUM VAR. WHITE BURLEY									
Gelijktijdige toediening van klei *Clay applied simultaneously*									
TNV+anjersap/*carnation sap*	404: 6		99%	1680: 43		97%	119: 15		87%
TNV+montmorilloniet	781:1217	55%		542:2802	417%		61:217	256%	
TNV+anjersap/*carnation sap*+montmorilloniet	332: 310		7%	417: 932	123%		107:371	247%	
TNV+anjersap/*carnation sap*	1279: 69		95%	36: 14		61%			
TNV+H-illiet	1420:2463	73%		50: 567	1034%				
TNV+anjersap/*carnation sap*+H-illiet	1173: 348		70%	11: 34	209%				
Latere toediening van klei *Clay applied afterwards*									
TNV+anjersap/*carnation sap*	515: 5		99%						
TNV, later/*afterwards* montmorilloniet	784:1154	47%							
TNV+anjersap/*carnation sap*; later/*afterwards* montmorilloniet	819: 293		64%						
PHASEOLUS VULGARIS var. BEKA									
TNV+anjersap/*carnation sap*	159: 0		100%						
TNV, later/*afterwards* H-illiet	215: 94		56%						
TNV+anjersap/*carnation sap*; later/*afterwards* H-illiet	175: 24		86%						

* c:t = verhouding tussen aantallen vlekken op de controle-bladhelften, resp. controlebladeren, en die op de toets-bladhelften, resp. toetsbladeren, der geïnoculeerde planten van *N. tabacum* en *P. vulgaris*.

* *c:t = ratio of numbers of lesions on the control leafhalves and control leaves resp., and those on the test leafhalves and test leaves resp., of the inoculated plants of* N. tabacum *and* P. vulgaris.

TABEL 2. Aantal vlekken bij inoculatie op bladeren van *N. tabacum* var. White Burley met virus gemengd met anjersap en behandeld met klei.
Number of local lesions from inoculations on White Burley tobacco leaves with virus mixed with carnation sap and treated with clay.

	Proef 1/*Experiment 1*			Proef 2/*Experiment 2*		
	c : t *	stimulering *stimulation*	remming *inhibition*	c : t *	stimulering *stimulation*	remming *inhibition*
TNV 1 : 100 + anjersap + montmorilloniet; schudden en afcentrifugeren; bovenstaande vloeistof geïnoculeerd . . . . . *TNV 1 : 100 + carnation sap + montmorillonite; shaken and spun; supernatant inoculated*	233 : 59		75 %	100 : 47		53 %
Bovenstaande vloeistof + TNV 1 : 100, gemengd en geïnoculeerd . . . *Supernatant + TNV 1 : 100, mixed and inoculated*	90 : 49		46 %	73 : 189	159 %	
Anjersap + montmorilloniet; schudden en afcentrifugeren; bovenstaande vloeistof + TNV 1 : 100, gemengd en geïnoculeerd . . . . . *Carnation sap + montmorillonite; shaken and spun; supernatant + TNV 1 : 100, mixed and inoculated*	90 : 28		69 %	65 : 47		28 %
TNV 1 : 100 + anjersap + H-illiet; schudden en afcentrifugeren; bovenstaande vloeistof geïnoculeerd . . . . . *TNV 1 : 100 + carnation sap + H-illite; shaken and spun; supernatant inoculated*	352 : 488	39 %		237 : 323	36 %	
Bovenstaande vloeistof + TNV 1 : 100, gemengd en geïnoculeerd . . . *Supernatant + TNV 1 : 100, mixed and inoculated*	233 : 607	161 %		238 : 285	20 %	
Anjersap + H-illiet; schudden en afcentrifugeren; bovenstaande vloeistof + TNV 1 : 100, gemengd en geïnoculeerd . . . . . *Carnation sap + H-illite; shaken and spun; supernatant + TNV 1 : 100, mixed and inoculated*	175 : 330	89 %		202 : 157	22 %	

* c : t = verhouding tussen de aantallen vlekken op de controle-helften en die op de toets-helften der geïnoculeerde bladeren.
* *c : t = ratio of numbers of lesions on the control halves and those on the test halves of the inoculated leaves.*

alleen op een binding van de remstof uit anjersap maar eveneens op een binding van een mogelijk in het inoculum aanwezige remstof.

BINDING VAN DE REMSTOF UIT BONEBLADEREN

Deze remstof uit bonebladeren zou door klei verwijderd moeten worden, opdat het infectievermogen van het inoculum groter wordt.

Inoculum, bereid op de wijze zoals eerder werd aangegeven, werd gemengd òf met montmorilloniet òf met H-illiet òf met beide tegelijk, waarna het mengsel op de bladeren van White Burley tabak werd geïnoculeerd. Uit de resultaten van deze proeven (tabel 3) blijkt duidelijk, dat kleibehandeling, zowel in basische als in zure mengsels, het virus in belangrijke mate bevrijd heeft van remmingen. Bij onverdund TNV is de klei niet in staat alle boneremstof te adsorberen, zodat de stimulering gering is. Dit is vooral met H-illiet het geval.

TABEL 3. Aantal vlekken bij inoculatie van een mengsel van TNV + klei op bladeren van White Burley.
Number of local lesions from inoculations with a mixture of TNV + clay on White Burley leaves.

	pH	c : t	stimulering *stimulation*	remming *inhibition*
TNV onv./*und.* + H-illiet . . .	6,4	76 : 91	20%	
TNV 1 : 2 + H-illiet	6,4	31 : 186	500%	
TNV 1 : 100 + H-illiet	4,5	45 : 53	18%	
TNV onv./*und.* + montm. . . .	6,9	90 : 375	316%	
TNV 1 : 2 + montm.	7,2	49 : 889	1714%	
TNV 1 : 100 + montm. . . .	7,4	59 : 17		71%
TNV 1 : 2 + H-illiet + montm.	6,7	11 : 322	2827%	

Het grootste effect heeft de klei, wanneer een verdunning van het virus van 1:2 gebruikt wordt.

Is het virus zeer verdund (verdunning 1:100), dan heeft de klei blijkbaar niet alleen de remstof gebonden, maar eveneens een gedeelte van het virus, zodat de stimulering geringer is.

DISCUSSIE

Het meest opvallend effect van de behandeling met klei (zowel met montmorilloniet als met H-illiet) op het uit bonebladeren verkregen TNV-preparaat, is de activering van het virus.

Toediening van het kleimineraal nà inoculatie van het virus, al of niet gecombineerd met anjersap, heeft hetzelfde effect ten gevolge. In het bovenstaande werd aangenomen, dat hier sprake is van een selectieve binding van een remstof. Dit zou dan gelden zowel voor de remstof, afkomstig van de bonebladeren, als voor die, welke met het anjersap wordt toegevoegd. Niet gepubliceerde proeven hebben aangetoond, dat het TNV, in tabaksbladeren vermeerderd en gezuiverd met ammoniumsulfaat, aan kleimineralen wordt gebonden, omdat met mengsels

van dit gezuiverde virus en klei geen of nagenoeg geen virusinfectie op White Burley tabak te verkrijgen is.

De boven beschreven proeven maken het waarschijnlijk, dat de uit boon afkomstige remstof door de klei eerder wordt gebonden dan het TNV. De pH is bij deze binding van geen essentiële betekenis.

Baserend op de opvatting van RAGETLI, dat het gaat om het blokkeren van de receptoren door remstofdeeltjes, wanneer virusinfectie door toevoeging van anjersap wordt voorkomen, moet men een aanvullende veronderstelling maken om het opnieuw tot stand komen van de infectie door latere toediening van klei te verklaren. Na het verwijderen van de blokkerende remstof van de receptoren zouden de virusdeeltjes door deze vrijgekomen receptoren zodanig aangetrokken worden, dat een hechting plaats vindt en vermeerdering optreedt. Het is mogelijk deze receptoren-theorie te vervangen door de thans weer in de belangstelling gekomen matrijzen-hypothese. Volgens deze opvatting zou bij de enzymatische processen, waardoor het virus tot vermeerdering komt, het infecterende agens een rol vervullen als sjabloon. Dit sjabloon wordt onwerkzaam door toevoeging van remstoffen, welke door kleimineralen verwijderd kunnen worden. Bij de receptoren-hypothese gaat het om de inleiding tot de infectie, namelijk de aanhechting; bij de tweede hypothese om het daarna beginnend proces der vermeerdering. Het hier medegedeelde onderzoek geeft geen aanleiding tot meerdere steun aan de eerste hypothese. Wel zijn er mogelijkheden geopend voor nieuwe methoden voor viruszuivering en is het bestaan van een andere remstof, afkomstig van de boon, waarschijnlijk gemaakt.

SAMENVATTING

Gewerkt werd met tabaksnecrosevirus (TNV), geïsoleerd uit wortels van *Bouvardia humboldtii* hort. en vermeerderd op boon (*Phaseolus vulgaris* L. var. Beka). Het inoculum werd verkregen door de zieke bonebladeren eerst te bevriezen, daarna uit te persen en de ruwe bestanddelen te verwijderen door gedurende 5 min. bij 50 °C te verhitten en de samengeklonterde massa af te centrifugeren. Op overeenkomstige wijze werd een remstof geïsoleerd uit gezonde anjerplanten. Bij de juiste verhoudingen toegediend blijkt dit anjersap remmend te werken op het infectievermogen van het TNV, zowel bij White Burley tabak als bij boon.

Toevoeging van 0,5 g montmorilloniet of van 0,5 g H-illiet bij 10 ml inoculum geeft bij inoculatie op tabak een groter aantal vlekken dan zonder deze kleimineralen. Dit kan betekenen, dat in het inoculum een remstof aanwezig is, afkomstig uit bonebladeren, waarin het TNV werd vermeerderd. Deze remstof wordt door de gebezigde klei eerder gebonden dan door het TNV.

Kleimineralen stimuleren de werking van TNV eveneens, wanneer de anjerremstof toegevoegd was; ook in dit geval moet een selectief binden van de remstof verondersteld worden. De pH blijkt niet van essentiële betekenis te zijn. Montmorilloniet maakt de virussuspensie enigszins basisch, H-illiet zuur. Zowel de basiditeit als de aciditeit is des te sterker als de desbetreffende klei niet eerst wordt verwijderd. In de proeven ging het om het traject tussen pH 4,5 en pH 8,0.

Hetzelfde effect werd gevonden, wanneer de kleimineralen toegediend werden nadat de inoculatie op het tabaksblad reeds was verricht, zowel bij inoculaties

met het TNV alléén, als bij die met het TNV gemengd met anjersap. Men moet wel aannemen, dat zelfs de reeds in het blad aanwezige remstof wordt weggenomen. Hoe daarna de virusdeeltjes weer tot werkzaamheid komen, is onbekend. In dit verband zijn in de discussie twee mogelijkheden naar voren gebracht. Het onderzoek heeft geleid tot de mogelijkheid met kleimineralen nieuwe zuiveringsmethoden uit te werken en heeft tevens het voorkomen van een remstof, in bonebladeren, waarschijnlijk gemaakt.

SUMMARY

Experiments were made on the effect of carnation sap on the infectivity of tobacco necrosis virus (TNV). This virus was isolated from roots of a *Bouvardia humboldtii* plant and propagated in *Phaseolus vulgaris* plants (var. Beka). The inoculum was obtained by pressing sap from previously frozen leaves of the infected bean plants. The crude sap was heated for 5 min. at 50 °C and centrifuged in order to remove plant constituents. The same procedure was followed to obtain a preparation of inhibitor from sap of healthy carnation plants.

Virus inhibition occurred if inoculations were made with TNV mixed with carnation sap. In order not to have the inhibitor in excess, it was necessary to use a dilution of the carnation sap of 1:50. Adding 0.2 ml carnation sap to 0.8 ml TNV resulted in circa 100 % inhibition. It was found that clay minerals, viz. montmorillonite and H-illite, were able to remove inhibiting substances from a mixture of virus and inhibitor. H-illite was prepared by treating illite with HCl in such a way that the surface of the mineral particles became covered with an uniform layer of H^+-ions. Montmorillonite rendered the virussuspension alkaline and H-illite acid; the alkalinity and the acidity were more pronounced when the respective clay minerals were not previously separated from the virus suspension by centrifugation. In the quantities used (0.5 g H-illite or 0.5 g montmorillonite) the pH ranged from 4.5 to 8.0.

Since adding one of the clay minerals to the inoculum gave an increase in the number of local lesions on leaves of White Burley tobacco (proved not due to abrasive action) the presence in the inoculum of an inhibitor was deduced. This inhibitor must have been derived from the bean leaves in which the virus had been propagated. As the purification of the virus was not absolute, this inhibiting substance exerted its influence in each inoculation.

The substance was thought to be selectively bound by the clay minerals.

Experiments showed also that in a mixture of virus with an inhibitor from carnation, the latter has priority in being bound by clay. Very remarkable is the action of clay when it is applied to leaves which previously (a few minutes beforehand) have been inoculated either with virus or with virus mixed with carnation sap. In the first case a greater number of local lesions was found and in the second case the inhibiting action of the carnation sap was suspended or reduced and the infectivity of the virus was restored.

So it appeared that the clay was able to counteract the effect of the inhibiting substances present in the TNV inoculum; even when they had been introduced into the leaves a few minutes beforehand, it was able to counteract also.

Two hypotheses are to be considered with respect to these phenomena viz. the receptor theory and the template theory. RAGETLI (1957) supports the first theory, when he supposes that inhibiting substances are blocking the receptors,

so that virus particles cannot attach, or that they drive out the already attached particles from these supposed receptors. In this respect a further supposition must be added to the receptor theory, namely that restoration of infectivity after removal of inhibitors implies reinstatement of virus particles to these receptors.

With the template theory the infecting virus is supposed to act as a mould in the enzymatic processes by which new virus particles are formed. Inhibitors could be supposed to spoil these moulds. Clay minerals could clear these moulds again.

So the receptor theory relates to the first stage of infection viz. attachment, whereas the template theory is concerned with the process of multiplication. Our experiments give no reason to prefer one or the other theory. They have, however, brought forward the possibility of building up a new method of virus purification with clay minerals and also the possibility of there being a new inhibitor in bean leaves.

LITERATUUR

FAVEJEE, J. CH., – 1951. The origin of the „Wadden" mud. Meded. Landbouwhogesch., Wageningen no. 51: 113–141.

RAGETLI, H. W. J., – 1957. Onderzoekingen over een virusremstof voorkomend in Dianthus caryophyllus L. T. Pl.ziekten 63 : 245–344.

WANT, J. P. H. VAN DER, – 1952. Some remarks on soil-borne virus diseases. Proc. Conf. Pot. Virus Diseases, Wageningen-Lisse, 1951: 71–75.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 419–421

ONDERZOEKINGEN OVER VIRUSZIEKTEN VAN VLINDERBLOEMIGEN[1]

With a summary: Studies on virus diseases of legumes

DOOR

J. P. H. VAN DER WANT en L. BOS

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

INLEIDING

Vlinderbloemige gewassen zijn in Nederland economisch en landbouwkundig van veel betekenis. Onder de ziekten, die deze gewassen belagen, nemen die, welke door virussen worden teweeggebracht, een belangrijke plaats in. Over de mate, waarin ze hier te lande optreden en de wijze, waarop ze kunnen worden bestreden of voorkomen, is nog betrekkelijk weinig bekend. Daarom worden sinds enige tijd op het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek onderzoekingen over de virusziekten van vlinderbloemigen verricht.

In de fytopathologische literatuur zijn verspreide gegevens te vinden over het voorkomen van virusziekten bij leguminosen. Schrijvers hebben zich tot taak gesteld een systematisch onderzoek te verrichten over de betrokken virussen en hun gegevens te vergelijken met die, welke in de literatuur voorkomen.

De literatuurlijst, die aan deze publikatie is toegevoegd, geeft een overzicht van de artikelen, die in de loop van de jaren over in Nederland bij vlinderbloemigen verricht virusonderzoek zijn verschenen.

METHODEN VAN ONDERZOEK

Het onderzoek is er op gericht te komen tot een inventarisatie en identificatie van de in Nederland bij vlinderbloemigen voorkomende virussen. Daarnaast zal worden nagegaan welke de economische betekenis van elk der gevonden virussen in ons land is.

Op verschillende wijzen worden gegevens bijeengebracht. In de eerste plaats wordt materiaal verzameld door waarnemingen in praktijkpercelen van de onderhavige gewassen te verrichten. Ook inzendingen van de voorlichtingsdiensten zijn hierbij welkom. Voorts worden op verschillende plaatsen in het land proefveldjes aangelegd, waarop in kleine vakjes een vrij groot aantal soorten en rassen van Papilionaceeën worden geteeld. Deze proefveldjes dienen om eventuele, in de desbetreffende streek voorkomende virussen als het ware te vangen.

Zijn eenmaal isolaties gemaakt, dan worden de betrokken virussen in de kas op een vrij uitgebreid toetssortiment geïnoculeerd. In vele gevallen kunnen de inoculaties met behulp van sap van zieke planten worden verricht. Lukt dit niet, dan wordt getracht dit te doen door middel van verschillende soorten insekten, doorgaans bladluizen. Het toetssortiment is in zijn eenvoudigste vorm samengesteld uit: boon, tuinboon, erwt (enkele rassen), rode, witte en inkarnaatklaver. Een uitgebreider toetssortiment omvat bovendien, naast enige andere vlinderbloemigen, een aantal plantesoorten, behorende tot andere families, zoals tabak,

[1] Aangenomen voor publikatie 15 augustus 1958.

komkommer, *Gomphrena globosa* en *Chenopodium amaranticolor*. Het doel van deze kasproeven is tot een differentiatie van de geïsoleerde virussen te komen, aan de hand van verschillen in toetssortiment en verschillen in symptomen, terwijl tevens op deze wijze wordt getracht eventuele mengsels van virussen in de enkelvoudige componenten uiteen te leggen. Onderzocht wordt in hoeverre centrifugeertechnieken mede hierbij van dienst kunnen zijn.

Is op grond van dit werk met proefplanten de indruk verkregen, dat een isolatie uit niet meer dan één virus bestaat, dan worden de eigenschappen in vitro bepaald, te weten de verdunningsgrens, de inactiveringstemperatuur en de houdbaarheid in bij kamertemperatuur bewaard perssap. Tevens worden de morfologische eigenschappen (vorm en afmetingen) met de elektronenmicroscoop bestudeerd, alsmede de serologische hoedanigheden van het betrokken virus. Ook de eventuele overdracht door middel van insekten wordt nagegaan. Op deze wijze worden de eigenschappen van de afzonderlijke virussen zo goed mogelijk omschreven ten einde in het vervolg een snelle herkenning van het virus, dus een snelle diagnose van de ziekte, mogelijk te maken.

Onderzoek over de eventuele rol van insekten als overbrengers van de virussen dient tevens om een inzicht te krijgen in de wijze, waarop verspreiding te velde geschiedt.

Hieronder volgt een opsomming van de in Nederland inmiddels uit vlinderbloemigen geïsoleerde virussen en de hierdoor veroorzaakte ziekten.

1. heksenbezemvirus	– heksenbezemziekte (vergroening) klavers
2. komkommermozaïekvirus	– verdorringsziekte gele lupine verwelkings- en necroseverschijnselen erwt
3. luzernemozaïekvirus	– luzernemozaïek
4. nerfmozaïekvirus van rode klaver	– nerfmozaïek rode en andere klavers, gedrongen-topziekte erwt
5. *Phaseolus virus* 1	– rolmozaïek boon
6. *Phaseolus virus* 2	– scherpmozaïek boon, waarschijnlijk ook lupinemozaïek
7. *Pisum virus* 1	– „enation" mozaïek erwt
8. *Pisum virus* 2	– gewoon erwtemozaïek
9. tabaksnecrosevirus	– stippelstreep boon
10. topvergelingsvirus	– topvergeling erwt en tuinboon
11. vroege verbruiningsvirus	– vroege verbruining erwt
12. witte-klavervirus	– een nog niet voldoende gedefinieerde ziekte

Een uitvoerige behandeling van deze virussen en virusziekten wordt door schrijvers gegeven in een artikel in het maandblad Landbouwvoorlichting.

NABESCHOUWING

De schrijvers hopen binnenkort te beginnen met de publikatie van de gegevens van hun onderzoekingen aangaande een aantal uit vlinderbloemigen geïsoleerde virussen. Dit artikel dient hiertoe als een inleiding.

Zoals reeds werd opgemerkt wordt nagestreefd om de resultaten van dit onderzoek te vergelijken met gegevens, die in de loop van de jaren in buitenlandse publikaties zijn neergelegd. Evenals bij zovele andere onderzoekingen over plantevirussen doet zich ook hier de noodzaak gevoelen van internationale samenwerking ten behoeve van de identificatie van in verschillende delen der wereld voorkomende virussen. De schrijvers stellen zich voor dit te bereiken door het uitwisselen van gegevens aangaande waardplanten, eigenschappen in vitro en

morfologie. Van grote betekenis is tevens het uitwisselen van antisera tegen de betrokken virussen.

Als voorbeeld van deze internationale samenwerking zal binnenkort in het kader van deze reeks onderzoekingen een artikel worden gepubliceerd over het nerfmozaïekvirus van rode klaver in Nederland, dat in samenwerking met Prof. Dr. D. J. HAGEDORN uit Madison, Wisconsin, U.S.A., tot stand is gekomen.

SAMENVATTING

Vanwege de betekenis van de virusziekten voor de cultuur van vlinderbloemige gewassen is op het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek een uitgebreid, systematisch onderzoek aan de gang met als doel de inventarisatie en identificatie van bij deze gewassen in Nederland voorkomende virussen. De reeds geïsoleerde virussen worden opgesomd. De literatuurlijst geeft een overzicht van datgene wat tot dusver in Nederland over dit onderwerp is gepubliceerd.

Het artikel vormt een inleiding tot een reeks publikaties, die betrekking zullen hebben op de verschillende virussen en de ziekten, die er door worden teweeggebracht.

SUMMARY

Since virus diseases are of great importance in the cultivation of leguminous crops, extensive, systematic studies are carried out on them at the Institute of Phytopathological Research, Wageningen. The aims are to identify and record the viruses involved. A list of legume viruses already isolated in the Netherlands is given.

Stress is laid on the need for international cooperation in the study of virus diseases of crops, and of legumes in particular. The article is an introductory one of a series of publications dealing with the various viruses found in the Netherlands and the diseases caused by them.

LITERATUUR

BOS, L. & J. P. H. VAN DER WANT, – 1958. Virusziekten van vlinderbloemigen. Landbouwvoorlichting 15: 550-558.

EVENHUIS, H. H., – 1958. Investigations on a leafhopper-borne clover virus. Proc. 3rd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen, 1957: 250–253.

FLUITER, H. J. DE & N. HUBBELING, – 1955. Waarnemingen over topvergeling bij erwten. T. Pl.ziekten 61: 165–175.

HAGEDORN, D. J., L. BOS & J. P. H. VAN DER WANT, – 1959. The red clover vein-mosaic virus in the Netherlands. T. Pl.ziekten (in druk).

HUBBELING, N., – 1955. Topvergeling bij erwten, een virusziekte. T. Pl.ziekten 61: 19.

HUBBELING, N., – 1955. Ziekten en beschadigingen van bonen (Hoofdst. 2. Virusziekten). Tuinbouwvoorlichting no. 3: 12–26.

HUBBELING, N., – 1956. Resistance to top yellows and Fusarium wilt in peas. Euphytica 5: 71–86.

MASTENBROEK, C., – 1942. Enkele veldwaarnemingen over virusziekten van lupine en een onderzoek over haar mozaïekziekte. T. Pl.ziekten 48: 97–118.

OSWALD, J. W., A. ROZENDAAL & J. P. H. VAN DER WANT, – 1955. The alfalfa mosaic virus in the Netherlands, its effect on potato and a comparison with the potato aucuba mosaic virus. Proc. 2nd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen, 1954: 137–147.

SPIERENBURG, D., – 1936. Een virusziekte in lupinen. T. Pl.ziekten 42: 71–76.

WANT, J. P. H. VAN DER, – 1948. Stippelstreep van de boon (Phaseolus vulgaris), een ziekte veroorzaakt door een virus, dat in de grond overblijft. T. Pl.ziekten 54: 85–90.

WANT, J. P. H. VAN DER, – 1954. Onderzoekingen over virusziekten van de boon (Phaseolus vulgaris L.). Diss. Wageningen, 84 pp. (Meded. I.P.O. Wageningen, no. 85).

T. Pl.ziekten 64 (1958): 422–431

RESISTANCE TRIALS AGAINST COLLAR ROT OF APPLES CAUSED BY *PHYTOPHTHORA CACTORUM*[1]

Met een samenvatting: Onderzoek over resistentie tegen stambasisrot van appels, veroorzaakt door Phytophthora cactorum

BY

J. G. TEN HOUTEN

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

INTRODUCTION

In 1953 a hitherto mysterious and in many cases serious trunk rot of 10 to 20 year-old Cox's Orange Pippin trees occurring in orchards in different parts of the Netherlands was found to be caused by *Phytophthora cactorum* (LEB. et COHN) SCHROET. (TEN HOUTEN, 1953). This parasite was already known as the cause of either collar rot or crown rot of apple trees in U.S.A. (BAINES, 1939), Canada (WELSH, 1942), New Zealand (SMITH, 1950), Germany (BRAUN, 1952) and England (SMITH, 1953). The difference between collar rot (the only rot known from Western Europe) and crown rot is that the first develops at the lower parts of the trunk just above the soil surface whereas the second causes a rot of the main roots and of the trunk just below the surface; crown rot is especially known from irrigated orchards. We shall focus our attention on collar rot (fig. 1 and 2), but in citing foreign literature crown rot may also be mentioned, as the disease is the same in principle.

Although preventive measures such as the application of fungicides, good drainage of the orchard, picking up dropped fruits etc. does reduce the number of affected trees, it has not been possible to prevent all spreading of the disease in this way.

Cutting out of the diseased bark and treating the wounds with fungicides has also been successful to some extent. But the most promising means of preventing the establishment of the disease seems to be the use of resistant rootstocks and resistant intermediate scions. That a great difference exists in susceptibility between different rootstocks and different varieties was already known from investigations in the U.S.A. (BAINES, 1939), Canada (FITZPATRICK et al. 1944, MCINTOSH & MELLOR, 1953) and New Zealand (SMITH, 1955).

Breeding for resistance against *Phytophthora cactorum* has been initiated in Canada (MCINTOSH & MELLOR, 1954), but it will be a long time before a resistant desirable variety like Cox's may be obtained.

We concentrated our efforts on the search for resistant varieties. For this purpose a large number of apple varieties were collected in our experimental orchard at Wageningen, and in Limburg some apple orchards with trees about 10 year-old or older were used for comparson in our inoculation trials.

[1] Accepted for publication 4 August 1958.

FIG. 1.
Collar rot on Cox's Orange Pippin.
→ diseased area
Stambasis-rot bij Cox's Orange Pippin.
→ *aangetast bastgedeelte*

FIG. 2.
Same tree as fig. 1 after cutting away the outer bark tissues.
Dezelfde boom als fig. 1 na wegsnijden van de buitenste bastlagen.

FIG. 3.

Spiral-like inoculation with *P. cactorum* strains on Cox's Orange Pippin tree.
Inoculaties met stammen van P. cactorum, *spiraalsgewijs aangebracht op Cox's.*

Before starting our main inoculation trials the following important questions had to be answered.

1. Which is the most reliable inoculation technique?
2. Is there any difference in virulence between the isolates of *Phytophthora cactorum*?
3. Is there any interaction between different isolates and susceptibility of special varieties, in other words is there any host selectivity among the strains of *Phytophthora cactorum*?
4. What will be the best time of the year for optimal infection?
5. Is there any difference in susceptibility between young and old trees of the same variety?
6. Do individual trees of the same age and variety, growing under the same conditions, vary in susceptibility?
7. Does the rootstock exert any influence on the susceptibility of the scion?
8. Is there any difference in susceptibility between the bark tissues just above the root scion union and those at a higher spot on the main trunk?

1. *The inoculation technique*

In the first trials the method described by BAINES (1939) was used, i.e. a small piece of mycelium and agar was inserted into a deep incision made with the point of a scalpel. The inoculations were covered with cloth and grafting wax. Later a cork borer method was used (BUDDENHAGEN, 1955) making a hole 1 cm in diameter in the bark, down to the wood, inserting a piece of agar with the fungus into the hole, replacing the disc of bark and sealing the wound with vaseline. It appeared to be advisable to fasten the piece of bark with a cotton ribbon in order to prevent displacement (fig. 3). The advantage of the cork borer method is that all wounds have the same size, which allows an easy calculation when measuring the cankers.

2. *Which isolates of the parasite should be used?*

From the literature it was already known that isolates of the parasite differed in pathogenicity. For our resistance trials it was essential that we should use a strain with a high virulence in order to get maximum spread of disease symptoms. On 10 year-old Cox's Orange Pippin trees 20 isolates of *Phytophthora cactorum*, originating from different orchards, were inoculated. There appeared to be a great difference in pathogenicity. An isolate from *Saxifraga cotyledon* from the Central Bureau of Fungus Cultures, Baarn, was almost non-pathogenic, whereas some isolates from Limburg orchards showed a high pathogenicity. For our resistance trials we choose two virulent and one less virulent strain, all isolated from the bark of diseased apple trees.

3. *Is there any host specificity?*

During our experiments it was found that pathogenicity of different isolates was to some extent also dependent on the variety inoculated; i.e. among the strains of *P. cactorum* some host selectivity exists. Analysis of variance of the infection data showed a significant interaction between the isolates and the varieties, but compared with the differences between pathogenicity of the isolates and between the difference in susceptibility between the varieties the effect of this interaction is small.

4. *What is the best season for inoculation?*

In inoculation trials carried out with *P. cactorum* on cut branches of Cox's Orange Pippin, placed in polyethylene bags and incubated at various temperatures at our laboratory, it was found that temperatures above 15 °C and below 30 °C (with an optimum of 20 to 25 °C) were most favourable for canker-size increase (BUDDENHAGEN, 1955). In nature temperature is not the only factor important for infection. Also high humidity is essential for the growth of this fungus. Therefore, in order to establish the best time for inoculation it was necessary to carry out monthly infection trials under orchard conditions. This was done both with *P. cactorum* and with *P. syringae*, a *Phytophthora* species frequently isolated from rotting apple and pear fruits. The results are shown in fig. 4. From the graphs it will be clear that in 1956 June was the best month for ino-

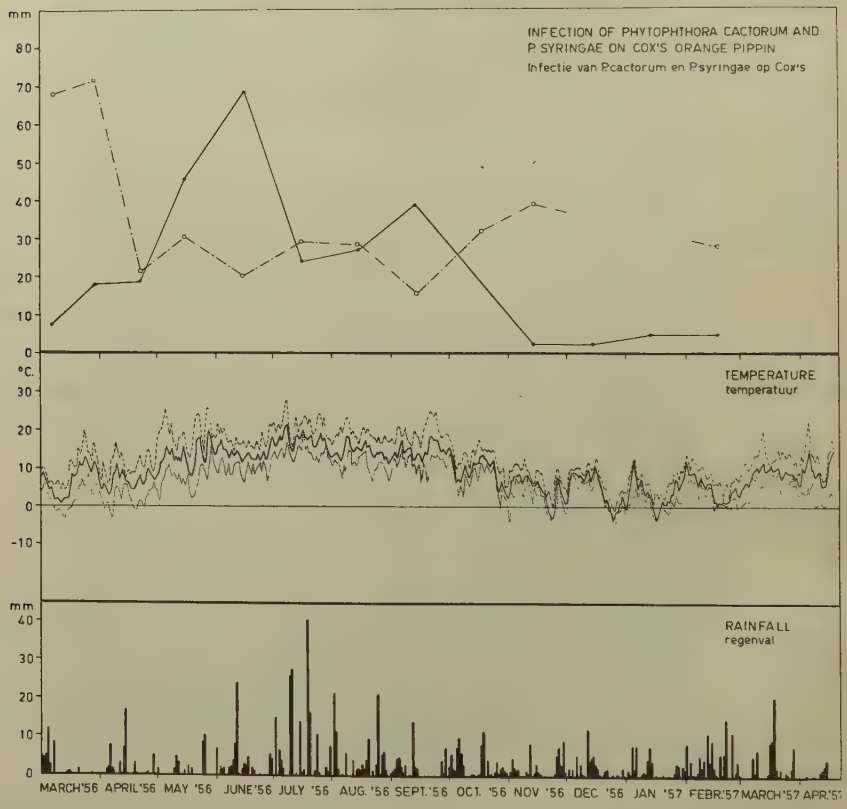

mm
INFECTION OF PHYTOPHTHORA CACTORUM AND P. SYRINGAE ON COX'S ORANGE PIPPIN
Infectie van P.cactorum en P.syringae op Cox's
°C.
TEMPERATURE
temperatuur
mm
RAINFALL
regenval
MARCH'56 APRIL'56 MAY '56 JUNE'56 JULY '56 AUG. '56 SEPT.'56 OCT. '56 NOV '56 DEC '56 JAN '57 FEBR.'57 MARCH'57 APR.'57

FIG. 4. Seasonal spread of infection of *P. cactorum* and *P. syringae* on Cox's Orange Pippin in relation to temperature and rainfall.

Mate van aantasting van Cox's door P. cactorum *resp.* P. syringae *in de verschillende maanden van het jaar i.v.m. temperatuur en regenval.*

——— in upper graph = spread of infection with *P. cactorum*
mate van aantasting door P. cactorum

- - - - - - - in upper graph = ditto with *P. syringae*
dito door P. syringae

culation with *P. cactorum*, whereas for *P. syringae* March was most suitable. Ir. Roosje repeated these experiments in 1957 in the orchard of the Fruit Tree Experiment Station, Zeeland, and again found optimum spread of infection after inoculating *P. cactorum* in June. We shall leave *P. syringae* out of consideration in the rest of this article, because this fungus, although very pathogenic after inoculation, has never been isolated from naturally diseased apple trunks.

5. *Susceptibility of young and old trees of the same variety*

Natural infection of Cox's variety is almost exclusively found in trees 10 year-old or older, but this seems more due to bark conditions favourable for attack by *P. cactorum*, than to a high resistance of the younger tree, although it is true that, after artificial infection, cankers seldom become dangerous in young trees. Contrary to Braun & Kröber (1958), who only call an infection positive if the canker keeps growing actively until it finally girdles the trunk or the branches, we are of the opinion that every infection is positive where rotting of the bark occurs over some distance. This does not mean, however, that such varieties will also be liable to attack in nature. But it gives us a means of distinguishing between various degrees of susceptibility. This seems of particular interest for the selection of the most resistant intermediate stocks. A comparison of the susceptibility of five commercial varieties growing partly as 17 year-old trees in a Limburg orchard and partly as three year-old trees in our experimental orchard at Wageningen, demonstrated the range of susceptibility to be entirely the same; the order of susceptibility thus seems independent of the age of the trees.

6. *Is there any difference in susceptibility between individual trees of one variety?*

Experiments with several trees of one variety of the same age and growing under the same conditions have shown some variability in resistance; however, generally speaking susceptibility was of the same order within each variety. E.g. 10 trees of the susceptible variety Transparante de Croncels gave the following figures: 39, 42, 47, 38, 42, 46, 44, 45, 44 and 38 (mm length of infection); five trees of Schone van Boskoop had cankers of 24, 22, 21, 26, 23 mm, whereas six Yellow Transparant trees showed 19, 15, 19, 18, 11 and 14 mm of dead bark tissue against 8, 5 and 5 mm for James Grieve, one of the most resistant varieties in our country. All these trees were three year-old and tested in our Wageningen experimental orchard. The same varieties tested in larger numbers of 17 year-old trees in Limburg orchards, although showing more individual fluctuations in susceptibility, still gave the same order of resistance. Therefore it is believed that a rather reliable indication of the amount of resistance may be obtained by inoculating only a few trees of each variety. This seems important for in many cases only two or three trees of one variety are available for these trials.

7. *Does the rootstock exert any influence on the susceptibility of the scion?*

Baines (1939) finds little or no influence of the rootstock on the resistance of the scion against *P. cactorum*. As no opposite opinion could be found in literature no special attention was paid to the type of rootstock when comparing the resistance of different apple varieties. However, after our experiments were finished we found that scions on seedling rootstocks appeared to be more susceptible than on EM rootstocks (mostly EM IV and EM VII). This was probably due to the more vigorous growth of the trees with seedling rootstocks.

Recent work of NIENHUIS (in BRAUN & KRÖBER, 1958) also suggests influence of the rootstock.

8. *Is the root-scion union more susceptible than other parts of the trunk?*

Infection trials did not show any difference in susceptibility of the bark tissues just above the root-scion union and other places on the trunk or the lower branches. Therefore we have carried out several inoculations in a spiral along the trunk (fig. 3).

RESISTANCE TRIALS

After the various aspects in connection with the reliability of artificial inoculation of apple trees with *Phytophthora cactorum* had been investigated a large number of apple varieties and rootstocks were inoculated.

About 80 apple varieties and eight East Malling (EM) rootstocks have been tested for their resistance to *Phytophthora cactorum* and *Phytophthora syringae*. The latter fungus is frequently isolated from apple or pear fruits, but it has never been isolated from the trunk of a tree. Most varieties were obtained from the Institute for Horticultural Plant Breeding. These trees were for the greater part seven year-old when they were transplanted to our experimental orchard at Wageningen. Other varieties came from Limburg nurseries and were three year-old at the time of inoculation. A series of two year-old intermediate stocks from the Experimental Garden "Boom en Vrucht" at Kesteren was also put at our disposal.

Another series of inoculation experiments was carried out on a number of 17 year-old trees of six commercial varieties in a grower's orchard and on nine year-old EM rootstocks and some other nine year-old commercial varieties in the Experimental Orchard at Beezel (Limburg)[1].

All trees in the main experiment (70 varieties) were inoculated between July 25 and August 3, 1956. The extent of infection was measured between October 29 and November 1, 1956. As we did not know the best infection time before the end of 1956 it later appeared that our inoculations were carried out too late for optimal infection, but the differences found between the varieties seem still sufficient to allow some tentative conclusions. When checking the results the bark was cut away superficially. Then the full length of the discoloured tissue was measured allowing a substraction of 10 mm for the diameter of the bark disc cut out for inoculation.

RESULTS

Preliminary infection trials in 1954 on six varieties in a 17 year-old Limburg orchard with a heavy natural infection of Cox's Orange Pippin trees showed the following order of increasing resistance after artificial inoculation with *P. cactorum* in May: Cox's Orange Pippin, Schone van Boskoop, Jonathan, Yellow Transparant, James Grieve and Manks Codlin. In May 1955 BUDDENHAGEN inoculated 20 trees of each variety and although there were many fluctuations as

[1] The author is much obliged to Ir. S. A. H. M. VAN DE GEIJN and his assistant, Mr. P. J. VAN LIER from the Horticultural Advisory Service Limburg, for their valuable assistance and keen interest in these trials.

an average the same order of increasing resistance was found. Another series of 15 trees each was inoculated in the same orchard in August 1955. Again after four weeks the same sequence of resistance was measured. Also in our main experiment in the experimental orchard at Wageningen using only a few three year-old trees of each variety, we found exactly the same degree of relative resistance, although the trees had been inoculated with a different strain of *P. cactorum*. Manks Codlin was not present in this orchard. Table 1 shows the results for some of the most important varieties tested at Wageningen. James Grieve, Dubbele Zoete Aagt, Dubbele Bellefleur were most resistant. The two Dutch named varieties are now recommended for intermediate stocks. Transparante de Croncels, Sterappel, Red McIntosh, Neerland's Glorie, Reinette van Ekenstein, Sans Pareil and Cox's Orange Pippin all belong to the most susceptible varieties. In a Limburg trial on old trees Mr. VAN LIER found Freiherr von Berlepsch to be highly susceptible (TEN HOUTEN, 1957). This variety and Transparante de Croncels were also among the most susceptible varieties found in Germany (BRAUN & KRÖBER, 1958; SCHMIDLE, 1957). In our 1957 trials in combination with the Horticultural Advisory Service Limburg, Lombartscalville and Ellison's Orange also appeared to be very susceptible. In the 1957 rootstock trials, carried out with Mr. VAN LIER in the Experimental Orchard at Beezel, Limburg, on nine year-old EM rootstocks, EM IX was found highly resistant (which was also reported from N. Zealand and Canada). EM IV and EM VII were also very resistant, but EM XIII and EM XVI were very susceptible, even more susceptible than Cox's Orange Pippin. EM I and EM II were intermediate in susceptibility.

DISCUSSION

When using the cork borer method of inoculation as described by BUDDENHAGEN (1955) it is possible to evaluate the susceptibility of apple varieties for collar rot in a rather reliable way, even if only a few trees of each variety are available. Although several strains of *P. cactorum* exist, having a different virulence and showing some indication of differential pathogenecity, it seems probable that some apple varieties and rootstocks will be resistant towards all physiological strains of the fungus. This opinion is based on the consideration that some varieties and rootstocks have been found resistant or susceptible in infection trials carried out in different parts of the world. It is very improbable that this would be the case without a rather general resistance, as the strains of *P. cactorum* must be different in places at such large geographical distances (Western Europe, U.S.A., New Zealand). In evaluating the results of research workers outside Europe we must take into account that e.g. the Canadian workers test on resistance against crown rot, a disease of the main roots and lower trunk (below soil level), also caused by *P. cactorum*. Crown rot is of particular importance in irrigated orchards. Resistance of varieties and stocks need not be the same to crown rot and collar rot as was clearly demonstrated by SMITH (1955), who found e.g. different reactions below and above ground for the EM rootstocks XII and XIII.

Generally speaking the figures found for resistance in our trials should not be taken too strictly, but the extremes allow us to indicate those varieties which are very susceptible and those which are highly resistant. The latter may receive

consideration as intermediate stocks for such valued susceptible varieties as Cox's Orange Pippin.

TABLE 1. Resistance of some of the more important apple varieties to *Phytophthora cactorum*. Trees inoculated between 25 July and 3 August 1956, results measured between 29 October and 1 November 1956. Wageningen orchard.

Resistentie van enkele van de voornaamste appelrassen t.o.v. Phytophthora cactorum. *Bomen geïnoculeerd tussen 25 juli en 3 augustus 1956, resultaten gemeten tussen 29 oktober en 1 november 1956. Boomgaard te Wageningen.*

Variety *Ras*	Number of trees *Aantal bomen*	Average spread of infection in mm *Gemiddelde aantasting in mm*		
		Isolate I *Schimmel-isolatie I*	Isolate II *Schimmel-isolatie II*	Isolate III *Schimmel-isolatie III*
James Grieve	3	6	5	7
Dubbele Zoete Aagt	3	9	9	8
Wealthy	3	8	9	9
Dubbele Bellefleur	3	10	7	7
Cortland	2	10	6	12
Crimson Gravensteiner	3	12	8	11
Antonovka	2	13	8	8
Zoete Dobbert	2	13	9	9
Virginia Crab	3	12	11	13
Pres. d'Escourt	3	14	11	15
Yellow Transparant	6	18	14	15
Jonathan	7	20	14	16
Schone van Boskoop	5	22	19	15
Wilson's Red June	3	25	9	11
Rambour mortier	2	26	11	20
Pomme d'Or on VII	3	18	10	12
Pomme d'Or on seedling	3	25	12	26
Transp. de Croncels on IV	2	27	13	26
Transp. de Croncels on seedling	3	43	27	42
Neerlands Glorie on IV	3	27	12	23
Neerlands Glorie on seedling	3	38	20	30
Cox's Orange Pippin	3	30	16	23
Reinette Bergamotte	3	29	20	30
Reinette van Ekenstein	1	34	24	35
Sans Pareil	1	26	18	34
Red McIntosh	1	28	25	37
Sterappel	1	48	38	29

SUMMARY

In order to investigate resistance of apple varieties against collar rot (*Phytophthora cactorum*) some information on the following problems had to be gained.

1. Inoculation technique. A cork borer method appeared to be most suitable.
2. Difference in virulence between strains of *P. cactorum* existed, therefore separate inoculations were carried out with three different strains.
3. Host selectivity, although present among the strains of *P. cactorum*, was less than other effects.
4. Monthly inoculation trials indicated June to be the best time for optimal infection.

5. Although some difference was found in susceptibility between young and old trees the variety range of resistance remained the same.
6. Trees of the same variety and age, growing under the same conditions, sometimes differed somewhat in susceptibility but there seems no reason to use large numbers of trees for each variety in collar rot resistance trials.
7. As a rule no influence of the rootstocks on the susceptibility of the scion was found but scions grown on seedling stocks appeared to be more susceptible than those on EM IV and EM VII.
8. No difference in susceptibility was found between the bark tissue just above the root scion union and the bark at a higher spot along the main trunk.

After these points were established 80 apple varieties and 8 EM rootstocks were tested. James Grieve, Wealthy, Dubbele Zoete Aagt and Dubbele Bellefleur belonged to the most resistant varieties whereas Transparante de Croncels, Sterappel, Red McIntosh, Neerland's Glorie, Reinette van Ekenstein, Sans Pareil, Freiherr von Berlepsch and Cox's Orange Pippin were among the most susceptible varieties. EM IX appeared to be the most resistant rootstock. EM IV and EM VII also showed a high resistance. EM XIII and EM XVI were very susceptible, even more susceptible than Cox's Orange Pippin, whereas EM I and II were intermediate in susceptibility. For practical purposes it is recommended to use EM IX, EM IV and EM VII rootstocks. As the very susceptible Cox's Orange Pippin belongs to the most appreciated varieties, it has been advised to use the following resistant intermediate stocks: Dubbele Zoete Aagt and Dubbele Bellefleur. The Cox's Orange Pippin scion should be oculated at about 75 cm above soil level.

SAMENVATTING

Wanneer men de resistentie van appelrassen t.a.v. *Phytophthora cactorum*, de oorzaak van stambasisrot, wil onderzoeken, dient men eerst geïnformeerd te zijn over verschillende daarmee verband houdende problemen, die hier, met de door ons verkregen resultaten, worden opgesomd.

1. De beste methode van inoculatie bleek de door BUDDENHAGEN (1955) ontwikkelde kurkboormethode te zijn.
2. Er bleken verschillen in virulentie tussen de verschillende stammen van *P. cactorum* te bestaan. Daarom werden de te onderzoeken rassen met drie afzonderlijke en in virulentie verschillende isolaties van *P. cactorum* geïnfecteerd.
3. Hoewel er een wiskundig betrouwbare interactie bestaat tussen bepaalde *Phytophthora*-rassen en bepaalde appelrassen, bleek toch het effect hiervan klein t.o.v. de verschillen in aantasting tussen de appelrassen onderling en tussen de rassen van *P. cactorum* onderling.
4. Maandelijks uitgevoerde infectieproeven toonden aan, dat juni de beste maand was om een zo sterk mogelijke uitbreiding van de aangetaste plek te verkrijgen.
5. Bij enkele onderzochte appelrassen, en vooral bij Cox's Orange Pippin, bleek een verschil in vatbaarheid te bestaan tussen jonge en oude bomen, maar dat beïnvloedde de mate van resistentie van de verschillende appelrassen onderling niet.
6. Hoewel er individuele verschillen in vatbaarheid tussen de bomen van één ras

kunnen bestaan, zijn wij toch van mening, dat er bij een nauwkeurig uitgevoerde inoculatie en een ten minste twee maanden durende periode tussen inoculatie en het opmeten van de resultaten, geen reden aanwezig is om grote aantallen bomen van één ras te infecteren ten einde een redelijk betrouwbare uitspraak over de mate van resistentie te kunnen geven. Bovendien zijn meestal om praktische redenen maar weinig bomen voor inoculatie beschikbaar.

7. In de regel werd geen beïnvloeding van de vatbaarheid van de ent door de onderstam waargenomen, behalve bij een serie rassen, die zowel op zaailing als op EM IV, respectievelijk EM VII beschikbaar waren. In dit geval was steeds de vatbaarheid van de rassen groter als ze op zaailing stonden (en dus harder konden groeien).
8. Er werd geen verschil gevonden in vatbaarheid tussen het bastgedeelte vlak boven de entplaats en de hoger langs de hoofdstam gelegen bast. Inoculaties werden dan ook op verschillende plaatsen langs de stam verricht, maar steeds beneden de aanhechting van de gesteltakken.

Nadat wij over bovengenoemde punten enigszins waren ingelicht, werden 80 appelrassen en acht EM onderstammen op hun vatbaarheid getoetst. James Grieve, Dubbele Zoete Aagt en Dubbele Bellefleur behoorden tot de meest resistente rassen, terwijl Transparante de Croncels, Sterappel, Red McIntosh, Neerland's Glorie, Reinette van Ekenstein, Sans Pareil, Freiherr von Berlepsch en Cox's Orange Pippin tot de vatbaarste rassen behoren.

Van de onderzochte EM onderstammen was EM IX het meest resistent, maar ook EM IV en EM VII toonden een hoge mate van resistentie. EM XIII en EM XVI waren zeer vatbaar, zelfs vatbaarder dan Cox's Orange Pippin. EM I en EM II waren tamelijk vatbaar. Gelukkig worden in de praktijk in Nederland in hoofdzaak de drie eerstgenoemde (resistente) onderstammen gebruikt.

Ten einde zeer gewilde, maar voor stambasisrot bijzonder vatbare rassen als Cox's Orange Pippin tegen aantasting te vrijwaren, verdient het aanbeveling van resistente tussenstammen gebruik te maken. Hiervoor zijn in overleg met de N.A.K.B., P.D. en Tuinbouwconsulentschap Limburg voorlopig alleen Dubbele Zoete Aagt en Dubbele Bellefleur aanbevolen. De kwekers van plantmateriaal dienen er op te letten, dat zij de Cox's ent niet te laag boven de grond aanbrengen. Geadviseerd werd hiervoor een hoogte van 70 tot 80 cm aan te houden.

ACKNOWLEDGEMENT

The author is grateful for the cooperation and actual help of Mr. P. J. van Lier, Baarlo, and to the laboratory assistants Miss E. Veenis and Miss M. Hille Ris Lambers, Wageningen, for carrying out much of the routine work.

REFERENCES

Baines, R. C., – 1939. Phytophthora trunk canker or collar rot of apple trees. J. agr. Res. 59: 159–184.

Braun, H., – 1952. Rinden- oder Kragenfäule der Äpfel. Rhein. Mschr. Gemüse-, Obst- u. Gartenbau 40: 29.

Braun, H. & H. Kröber, – 1958. Untersuchungen über die durch Phytophthora cactorum (Leb. et Cohn) Schroet. hervorgerufene Kragenfäule des Apfels. Phytopath. Z. 32: 35–95.

Buddenhagen, I. W., – 1955. Various aspects of Phytophthora cactorum collar rot of apple trees in the Netherlands. T. Pl.ziekten 61: 122–129.
Fitzpatrick, R. E., F. C. Mellor & M. F. Welsh, – 1944. Crown rot of apple trees in British Columbia – Rootstock and scion resistance trials. Sci. Agr. 24: 533–541.
Houten, J. G. ten, – 1953. Een stambasisrot veroorzaakt door Phytophthora cactorum (Leb. et Cohn) Schroet. T.Pl.ziekten 59: 261.
Houten, J. G. ten, – 1957. Hoe staat het met de vatbaarheid van appelrassen voor stambasisrot? Fruitteelt 47: 155–158.
Mcintosh, D. L. & F. C. Mellor, – 1953. Crown rot of fruit trees in British Columbia. II. Rootstock and scion resistance trials of apple, pear and stone fruits. Can. J. agr. Sci. 33: 615–620.
Mcintosh, D. L. & F. C. Mellor, – 1954. Crown rot of fruit trees in British Columbia. III. Resistance trials on apple seedlings obtained from controlled crosses. Can. J. agr. Sci. 34: 539–541.
Schmidle, A., – 1957. Über Infektionsversuche an Apfelbäumen mit Phytophthora cactorum (Leb. et Cohn) Schroet., den Erreger der Kragenfäule. Phytopath. Z. 28: 329–343.
Smith, H. C., – 1950. Collar rot of apples and gooseberries. Orchardist N. Zealand 23: 13–14.
Smith, H. C., – 1953. Collar rot of apple trees in Essex. Plant Path. 2: 85–86.
Smith, H. C., - 1955. Collar rot and crown rot of apple trees. Orchardist N. Zealand 28.
Welsh, M. F., – 1942. Studies of crown rot of apple trees. Can. J. Res. Sect. C. 20: 457–490.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 432–439

DE INVLOED VAN ENKELE VIRUSSEN OP DE BLOEMVORMING BIJ KOMKOMMER[1]

With a summary: The influence of some virus diseases on flower formation in cucumber

DOOR

Y. VAN KOOT en H. J. M. VAN DORST

Proefstation voor de Groenten- en Fruitteelt onder glas, Naaldwijk

INLEIDING

De bloemvorming bij komkommer is een vraagstuk, dat in ons land nog onvoldoende is bestudeerd. Toch zou een vollediger kennis omtrent de factoren, die de bloemvorming kunnen beïnvloeden, ongetwijfeld voor de teelt van dit gewas van veel nut kunnen zijn. Zoals bekend mag worden verondersteld, vormt de komkommer geen tweeslachtige bloemen. Dit geldt althans voor de in Nederland geteelde rassen. Deze zijn alle éénhuizig, dat wil zeggen, dat mannelijke en vrouwelijke bloemen op dezelfde plant worden gevormd. De jonge plant vormt eerst enige tijd uitsluitend mannelijke bloemen en daarna zowel mannelijke als vrouwelijke. De vrouwelijke bloemen kunnen zonder bevruchting, dus parthenocarpisch, uitgroeien tot vruchten. De mannelijke bloemen zijn dus feitelijk overbodig en vaak zelfs schadelijk. Door bestuiving kunnen namelijk zogenaamde zaadkoppen ontstaan; dit zijn vruchten met een plaatselijke verdikking, die daardoor minder waard zijn. In de praktijk worden de mannelijke bloemen dan ook veelvuldig verwijderd (mede ter voorkoming van aantasting door *Botrytis*).

Voornamelijk dank zij onderzoek, dat verricht is in Pasadena (Californië), is reeds het één en ander bekend geworden omtrent de omstandigheden, welke de bloemvorming bij komkommer kunnen beïnvloeden. Zo is gebleken, dat het tijdstip, waarop de plant begint met de vorming van vrouwelijke bloemen, afhankelijk is van daglengte en temperatuur. Door een hoge temperatuur en een lange dag kan de vorming van vrouwelijke bloemen worden vertraagd. Hiermee dient o.a. rekening te worden gehouden bij de toepassing van kunstlicht. Bovendien is gebleken, dat naarmate de dag korter is en de temperatuur lager, de gevormde vrouwelijke bloemen beter in staat zijn om parthenocarpisch uit te groeien (overigens verlangt het komkommergewas voor een goede groei een betrekkelijk hoge temperatuur). Er zijn sterke aanwijzingen, dat dezelfde factoren ook in een later stadium van de ontwikkeling van de plant nog een rol spelen. Zij kunnen dan waarschijnlijk de verhouding tussen het aantal vrouwelijke en mannelijke bloemen beïnvloeden. Dit kwam o.a. tot uiting in een proef met gaasafdekking ter voorkoming van bestuiving door bijen. Hierdoor werd de temperatuur verhoogd, terwijl tevens in verhouding tot het aantal vrouwelijke bloemen minstens het dubbele aantal mannelijke bloemen werd gevormd.

Enkele waarnemingen wezen in de richting, dat ook virusinfectie de bloemvorming bij komkommer kan beïnvloeden. In verband hiermede is een beperkt onderzoek verricht, waarvan de resultaten in dit artikel zullen worden vermeld.

[1] Aangenomen voor publikatie 8 augustus 1958.

De Cucumis virussen 1, 2 (SMITH) en 2A (SMITH) worden op het Proefstation te Naaldwijk regelmatig in stand gehouden. Daartoe werd in maart 1956 een aantal gelijkwaardige jonge komkommerplanten van het ras Spotvrije op de zaadlobben geïnoculeerd met deze virussen. Na enige tijd viel het op, dat bij aanwezigheid van Cucumis virus 1 zeer veel mannelijke bloemen voorkwamen. Daarnaast was het aantal vrouwelijke bloemen en het aantal ranken gering. Bij aanwezigheid van Cucumis virus 2 werden daarentegen veel vrouwelijke bloemen en ranken en weinig mannelijke bloemen gevormd. Cucumis virus 2A gaf een overeenkomstige reactie als Cucumis virus 2. Toen de planten ongeveer 70 cm hoog waren, werden alle bloemen en ranken geteld (tabel 1).

TABEL 1. Bloemvorming en rankvorming bij viruszieke komkommerplanten.
Flower formation and tendril formation of virus-infected cucumbers.

	Aantal bloemen per plant *Number of flowers per plant*		♂/♀	Aantal ranken per plant *Number of tendrils per plant*	Groeikracht *Vigour of growth*
	♂	♀			
Cucumis virus 1	51,6	8	6,5	4,4 (kort/*short*)	5
Cucumis virus 2	5,2	15,6	0,3	7,2	7
Cucumis virus 2 A	9,6	19,4	0,5	8,4	4

Bij aanwezigheid van Cucumis virus 1 kwamen op één vrouwelijke bloem 6,5 mannelijke voor; bij aanwezigheid van Cucumis virus 2 en 2 A op één vrouwelijke bloem respectievelijk 0,3 en 0,5 mannelijke. Bij aanwezigheid van Cucumis virus 1 kwamen ongeveer half zoveel ranken voor als bij aanwezigheid van Cucumis virus 2 of 2 A .Bovendien waren deze ranken veel korter.

Men zou kunnen veronderstellen, dat de verschillen in bloemvorming een gevolg zijn van een door de virusbesmetting verminderde groeikracht van de plant. Het is bij verschillende gewassen bekend, dat de generatieve ontwikkeling kan worden bevorderd door ongunstige groeiomstandigheden. Bij de komkommer zou dit kunnen betekenen, dat bij slechte groei meer mannelijke bloemen en minder vrouwelijke worden gevormd, welke laatste dan bovendien in mindere mate het vermogen bezitten om parthenocarpisch uit te groeien. Uit de groeikrachtcijfers in tabel 1 blijkt, dat de planten besmet met Cucumis virus 1 weliswaar een geringere groeikracht vertoonden dan de planten met Cucumis virus 2, doch dat het veel groter aantal mannelijke bloemen hieruit toch niet kan worden verklaard. Bij aanwezigheid van het Cucumis virus 2 A was de groeikracht namelijk nog geringer en hier was het aantal mannelijke bloemen weer klein. Er bestaat dus waarschijnlijk een specifieke invloed van het virus op de bloemvorming bij de komkommer. Daar gelijkwaardige virusvrije planten ontbraken, was het echter niet goed mogelijk vast te stellen, welk van de virussen een abnormale bloemvorming heeft teweeggebracht. Onze indruk was echter, dat de bloemvorming in alle gevallen afwijkend was en dat virusvrije planten een tussenpositie zouden hebben ingenomen. Om hieromtrent zekerheid te krijgen zijn enige proeven genomen in verschillende tijden van het jaar.

PROEFOPZET

Voor elke behandeling zijn 5 tot 12 planten van het ras Spotvrije gebruikt. De planten werden gekweekt in nul-potten (inhoud ongeveer 10 dm^3 grond). De scheuten van de 1e orde zijn tot op de eerste oksel afgesneden. De nieuw gevormde scheuten uit de eerste oksel (van de 2e orde) zijn op dezelfde wijze gesnoeid. Met de bloeiwaarnemingen werd begonnen zodra de eerste bloei optrad. Hierbij werden dagelijks van elke plant de bloeiende mannelijke en vrouwelijke bloemen geteld en verwijderd. Zij zijn dus afkomstig van de hoofdstengel en de scheuten van de 1e en 2e orde. De bloeiwaarnemingen hebben gemiddeld zes weken geduurd. Zodra de planten een hoogte van 1,5 tot 2 m bereikten, werd de kop verwijderd. Tevens werden op dit tijdstip de ranken geteld.

RESULTATEN

a. Invloed van Cucumis virus 1 op de bloemvorming

De duidelijkste invloed op de bloemvorming bij komkommer wordt ongetwijfeld uitgeoefend door het Cucumis virus 1. De resultaten van één der vele proeven zijn weergegeven in fig. 1.

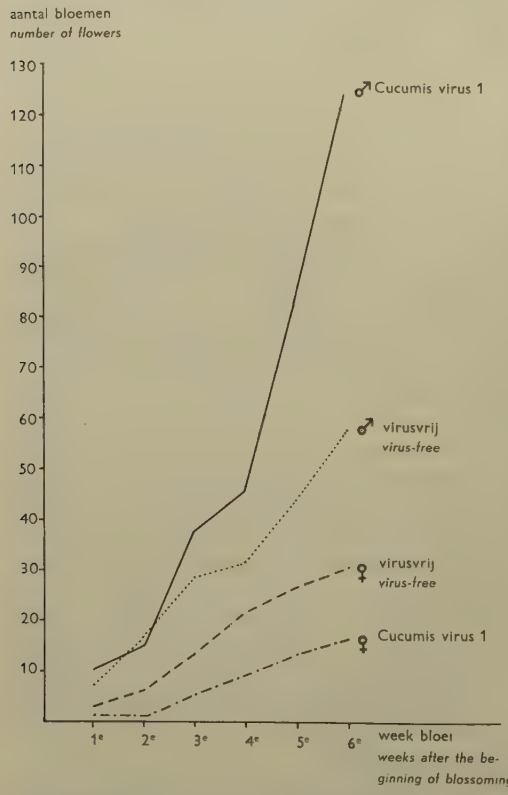


FIG. 1. Gemiddeld aantal mannelijke en vrouwelijke bloemen per plant.
Mean number of male and female flowers per plant.

Hieruit blijkt, dat de vorming van mannelijke bloemen door de aanwezigheid van dit virus wordt bevorderd, terwijl de vorming van vrouwelijke bloemen

wordt tegengegaan. In het begin van de bloei worden steeds voornamelijk mannelijke bloemen gevormd. Het valt dan ook niet te verwonderen, dat gedurende de beide eerste weken van de bloei het aantal mannelijke bloemen bij de virusvrije planten en bij de met Cucumis virus 1 besmette planten vrijwel gelijk is. Daarna worden aan de met Cucumis virus 1 besmette planten echter veel meer mannelijke bloemen gevormd. Zes weken na het begin van de bloei was dit aantal ruim dubbel zo hoog als bij de virusvrije planten (respectievelijk 123 en 57). De betrouwbaarheid van dit verschil wordt onderstreept door het feit, dat de viruszieke plant met het geringste aantal mannelijke bloemen er toch nog 15 meer had gevormd dan de virusvrije plant met het hoogste aantal mannelijke bloemen. Het aantal vrouwelijke bloemen is door de aanwezigheid van het Cucumis virus 1 van het begin van de bloei af ongeveer gehalveerd (na zes weken respectievelijk 16 en 30).

b. Bloemvorming in verschillende tijden van het jaar

Het bleek weldra, dat de uitkomsten van de proeven in belangrijke mate werden beïnvloed door het jaargetijde, waarin deze proeven plaats vonden. Om hieromtrent een beter inzicht te verkrijgen, zijn in tabel 2 de uitkomsten van verschillende proeven gerangschikt naar de periode, waarin de opkweek van de planten heeft plaats gevonden. Als enig gegeven is de verhouding tussen het aantal mannelijke en vrouwelijke bloemen zes weken na het begin van de bloei vermeld.

TABEL 2. Bloemvorming in verschillende tijden van het jaar, uitgedrukt in de verhouding mannelijke : vrouwelijke bloemen.
Flower formation in different seasons, expressed as ratio male: female flowers.

	Virusvrij *Virus free*	Cucumis virus 1	Cucumis virus 2	Cucumis virus 2A
januari	0,4	1,9		
maart		6,5	0,3	0,5
mei	1,9	7,8	2,5	
juli/augustus	7,3	23,8		
oktober/november . .	1,6	4,3	0,4	0,5

Bekijken we in de eerste plaats de virusvrije planten, dan blijkt de verhouding tussen het aantal mannelijke en het aantal vrouwelijke bloemen zeer sterk te kunnen schommelen (van 0,4 in januari tot 7,3 in juli/augustus). Zowel de lange dag als de hoge temperatuur in juli moeten aansprakelijk worden gesteld voor het grote aantal mannelijke bloemen. In mei, toen de dag even lang was, doch de nachttemperatuur aanmerkelijk lager, was het aantal mannelijke bloemen reeds belangrijk lager. In oktober/november, toen de dag aanzienlijk korter was, maar de temperatuur nog betrekkelijk hoog, was de verhouding mannelijke: vrouwelijke bloemen maar weinig lager dan in mei. Het lijkt niet onwaarschijnlijk, dat de ongunstige resultaten, die gewoonlijk met een nateelt komkommers in de herfst worden verkregen, voor een deel moeten worden geweten aan de zeer ongunstige verhouding tussen mannelijke en vrouwelijke bloemen bij deze in juli/augustus opgekweekte planten. Met deze ongunstige verhouding gaat bovendien meestal samen, dat de weinige vrouwelijke bloemen, die er nog gevormd worden, in mindere mate het vermogen bezitten om parthenocarpisch uit te groeien.

De bloemvorming bij de planten, die met Cucumis virus 1 zijn besmet, ver-

toont een geheel overeenkomstig verloop. Ook hier is de verhouding mannelijke : vrouwelijke bloemen in januari verreweg het laagst en in juli/augustus het hoogst (respectievelijk 1,9 en 23,8). Het gehele jaar door ligt deze verhouding echter 3,5 tot 4 maal zo hoog als bij de virusvrije planten. Dit is enerzijds het gevolg van het grotere aantal mannelijke bloemen, anderzijds van het kleinere aantal vrouwelijke bloemen.

De bloemvorming bij de planten, die met Cucumis virus 2 of 2 A zijn besmet, kan minder goed worden beoordeeld omdat hierover nog niet voldoende gegevens zijn verzameld. In maart en oktober/november was de verhouding mannelijke : vrouwelijke bloemen aanzienlijk lager dan bij de virusvrije planten (ongeveer $\frac{1}{4}$). Men mag namelijk aannemen, dat de verhouding bij de virusvrije planten in maart ongeveer 1,5 zou hebben bedragen. De enige waarneming uit mei geeft echter geen vermindering van deze verhouding te zien. Wellicht zijn deze virussen niet in staat de vorming van vrouwelijke bloemen bij een zeer lange dag te bevorderen.

c. Bloemvorming bij inoculatie met Cucumis virus 1 in verschillende groeistadia

Men kan zich voorstellen, dat de invloed van het virus op de bloemvorming van de komkommer groter is, naarmate de besmetting in een eerder groeistadium heeft plaats gevonden. Om hierover nader geïnformeerd te worden, zijn een aantal proeven opgezet, waarbij jonge komkommerplanten in verschillende groeistadia met Cucumis virus 1 werden geïnoculeerd. Enkele resultaten zijn vermeld in tabel 3. Ook in deze tabel zijn alleen cijfers opgenomen voor de verhouding tussen het aantal mannelijke en vrouwelijke bloemen zes weken na het begin van de bloei.

Inderdaad was de invloed van het virus groter, naarmate dit op een vroeger tijdstip de plant heeft kunnen binnendringen. Het effect van het virus op de bloemvorming was dan tevens sneller merkbaar.

TABEL 3. Bloemvorming na inoculatie met Cucumis virus 1 in verschillende groeistadia (uitgedrukt in de verhouding mannelijke : vrouwelijke bloemen).
Flower formation after inoculation with Cucumis virus 1 at different stages of growth (expressed as ratio male: female flowers).

	Proef 1 (mei/juni) *Experiment 1*	Proef 2 (juli/augustus) *Experiment 2*
zaadlobben/*cotyledons*	16,4	23,8
4e loofblad/*normal leaf*	8,0	12,3
20e loofblad/*normal leaf*		9,9
virusvrij/*virus free*	2,7	7,3

Uit tabel 3 blijkt, dat bij inoculatie op het vierde loofblad het verhoudingscijfer voor mannelijke en vrouwelijke bloemen slechts half zo groot is als bij inoculatie op de zaadlobben. Bij inoculatie op het twintigste loofblad is dit cijfer slechts weinig hoger dan bij de virusvrije planten. Dit verklaart tevens, waarom de beïnvloeding van de bloemvorming door de virusbesmetting in de praktijk nimmer is opgemerkt. Slechts een zeer gering deel van de planten wordt nl. in een zodanig vroeg stadium besmet, dat een belangrijke beïnvloeding van de bloemvorming te verwachten is.

d. Rankvorming na virusbesmetting

Er bestaat een zeer duidelijk verband tussen de rankvorming en de bloemvorming. Met een hoge verhouding van mannelijke : vrouwelijke bloemen (na besmetting met Cucumis virus 1) gaat een verminderde rankvorming gepaard. Dit komt zowel tot uiting in het aantal ranken als in hun lengte. Met een lage verhouding van mannelijke : vrouwelijke bloemen (na besmetting met Cucumis virus 2 of 2 A) gaat juist een verhoogde rankvorming gepaard.

Merkwaardig is, dat in het enige geval, waar besmetting met Cucumis virus 2 geen invloed had op de bloemvorming, de rankvorming niettemin werd gestimuleerd.

DISCUSSIE

Uit het hier beschreven onderzoek is overtuigend gebleken, dat virusbesmetting de geslachtstoestand van de komkommerplant kan beïnvloeden. Het effect van het Cucumis virus 1 is het meest spectaculair. Dit houdt waarschijnlijk verband met de richting van de verschuiving in de geslachtstoestand. Er heeft nl. een verschuiving plaats ten gunste van de mannelijke bloemen. Nu vraagt de vorming van de kleine mannelijke bloemen ongetwijfeld minder energie van de plant dan de vorming van de veel grotere vrouwelijke bloemen, nog afgezien van de energie, die nodig is voor het in meer of mindere mate doen uitgroeien van de vruchten. Bij besmetting met het Cucumis virus 2 heeft er echter een verandering van de geslachtstoestand in omgekeerde richting plaats. Dit vraagt juist extra energie, welke de door het virus verzwakte planten niet op kunnen brengen. Het gevolg is een minder rijke bloei. Er worden wel aanmerkelijk minder mannelijke bloemen gevormd, doch hier staat geen verhoging van het aantal vrouwelijke bloemen tegenover.

Bij het onderzoek is tevens naar voren gekomen, hoe groot de invloed van het jaargetijde is op de bloemvorming van komkommerplanten. Uit Japan (Ito & Saito, 1957b) en uit Amerika (Nitsch, Kurtz, Liverman & Went, 1952) zijn reeds gegevens bekend over de beïnvloeding van de bloemvorming door daglengte en temperatuur. Speciaal de nachttemperatuur schijnt doorslaggevend te zijn. Een lage nachttemperatuur en een korte dag zijn gunstig voor de vorming van vrouwelijke bloemen. Uit het onderzoek van Ito & Saito(1957b) is gebleken, dat in het bijzonder in de periode van 10 tot 30 dagen na het zaaien de planten zeer ontvankelijk zijn voor de inwerking van factoren, die de geslachtstoestand kunnen beïnvloeden. Tevens was bekend, dat niet elk komkommerras even gevoelig is voor deze factoren (Ito & Kato, 1954). Onder gelijke omstandigheden zullen bepaalde rassen eerder overgaan tot de vorming van vrouwelijke bloemen (Shiffriss & Galun, 1956); deze rassen zijn dus van nature vroeger.

Het is nog niet bekend, hoe men de invloed van de virusbesmetting op de geslachtstoestand van de komkommer moet verklaren. Men zou echter kunnen denken aan een beïnvloeding van de groeistofhuishouding. Er zijn nl. reeds verschillende voorbeelden bekend, waarbij de geslachtstoestand van komkommer of meloen door groeistoftoediening kon worden beïnvloed. In 1948 werd in Rusland reeds een effect vermeld van methyleenblauw (Kosolapoff, 1948). Vooral in Duitsland (von Heinze, 1956; Laibach & Kribben, 1950) en Japan (Ito & Saito, 1956a, 1957a) is het onderzoek naar de werking van groeistoffen voortgezet.

Bijna steeds was een invloed merkbaar in deze zin, dat verhoging van het groeistofniveau bevorderlijk was voor de vorming van vrouwelijke bloemen. Alleen trijoodbenzoëzuur had in geringe mate een tegengesteld effect. Vooral bespuitingen met α-naftylazijnzuur leidden echter tot de vorming van een groter aantal vrouwelijke bloemen en tot een terugdringen van het aantal mannelijke bloemen. De groeistoffen 2,4-D en β-indolylazijnzuur gaven een overeenkomstig resultaat.

Ito & Saito (1956b) zijn er zelfs in geslaagd, de vorming van mannelijke bloemen volkomen te onderdrukken door middel van zeer frequent toegepaste bespuitingen met α-naftylazijnzuur (10 d.p.m.). Bij een korte dag (8 uur) waren bespuitingen om de vier dagen hiertoe voldoende; bij een lange dag (15 uur) moest echter om de andere dag worden gespoten. Dezelfde onderzoekers (Ito et al., 1954) hebben ook aangetoond, dat de bloemen van de komkommerplant in eerste aanleg tweeslachtig zijn. Een laag groeistofniveau zou wel bevorderlijk zijn voor het uitgroeien van de meeldraden, maar niet voor het uitgroeien van de stamper. Er ontstaan dan mannelijke bloemen. Bij een hoger groeistofniveau kunnen tweeslachtige bloemen ontstaan of vrouwelijke. In dit verband lijkt het dus van groot belang om vast te stellen of het groeistofniveau door virusbesmetting kan worden beïnvloed.

SAMENVATTING

De bloemvorming bij komkommer is afhankelijk van het jaargetijde. De vorming van mannelijke bloemen wordt bevorderd door een hoge temperatuur en een lange dag; de vorming van vrouwelijke bloemen door een lage nachttemperatuur en een korte dag. Gebleken is, dat ook virusziekten invloed op de bloemvorming kunnen uitoefenen. In 1956 is voor het eerst waargenomen, dat bij aanwezigheid van Cucumis virus 1 veel mannelijke en weinig vrouwelijke bloemen werden gevormd. Bij aanwezigheid van Cucumis virus 2 (Smith) en 2 A (Smith) werden weinig mannelijke en meer vrouwelijke bloemen opgemerkt (tabel 1).

In verschillende proeven is de bloemvorming van virusvrije en van met virus besmette planten vergeleken. De invloed van Cucumis virus 1 was het duidelijkst: het aantal mannelijke bloemen werd ongeveer verdubbeld, het aantal vrouwelijke bloemen gehalveerd (fig. 1). Cucumis virus 2 had, hoewel minder duidelijk, een tegengesteld effect.

De verhouding mannelijke : vrouwelijke bloemen is het meest kenmerkend. Deze verhouding wordt sterk beïnvloed door het jaargetijde, waarin het opkweken van de planten plaats vindt. Dit komt zowel tot uiting bij virusvrije planten als bij met virus besmette planten (tabel 2). Naarmate de besmetting met Cucumis virus 1 op een vroeger tijdstip plaats vindt, is de invloed op de bloemvorming groter (tabel 3).

Er is een verband tussen rankvorming en bloemvorming. Bij een relatief groot aantal vrouwelijke bloemen worden meer ranken gevormd, die bovendien langer zijn.

In de discussie wordt betoogd, dat het effect van virusbesmetting wellicht kan worden verklaard uit een beïnvloeding van het groeistofniveau in de plant.

SUMMARY

Flower formation in cucumber plants depends on the season. The formation of male flowers is stimulated by high temperature and a long day. The formation of female flowers, on the other hand, is stimulated by low night temperature and a short day. Virus diseases appear to influence flower formation too. In 1956 it was observed for the first time, that the presence of Cucumis virus 1 induced the formation of many male and only few female flowers. On the contrary, if Cucumis virus 2 (SMITH) or Cucumis virus 2 A (SMITH) were present only a few male and more female flowers were formed (table 1).

In several experiments flower formation of virus-free and virus-infected plants was compared. The influence of Cucumis virus 1 was most obvious; the number of male flowers was doubled and the number of female flowers halved (fig. 1). Cucumis virus 2 had the opposite effect, though less marked.

The ratio male : female flowers is most characteristic. This ratio is strongly influenced by the season in which the propagation takes place and occurs both with virus-free plants and virus-infected plants (table 2). The influence on flower formation is greater if the infection with Cucumis virus 1 takes place in an early stage of the growth of the plant (table 3).

There is a correlation between tendril formation and flower formation. With a comparatively large number of female flowers more and longer tendrils are formed.

In the discussion it is suggested, that the effect of virus infection might be explained by the influence of the virus on the auxin level of the plant.

LITERATUUR

HEINZE, W. VON, – 1956. Versuche mit Wachstumregulatoren bei Melonen. Arch. Gart. 4: 312–319.

ITO, H. & T. KATO, – 1954. Factors responsible for the sex expression of Japanese cucumber. J. hort. Ass. Japan 22: 138–144. Ref. Hort. Abstr. 1954, 24: 328.

ITO, H. et al., – 1954. Factors responsible for the sex expression of Japanese cucumber II. J. hort. Ass. Japan 23: 65–70. Ref. Hort. Abstr. 1955, 25: 248.

ITO, H. & T. SAITO, – 1956a. Factors responsible for the sex expression of Japanese cucumber III. J. hort. Ass. Japan 25: 101–110. Ref. Hort. Abstr. 1957, 27: 70.

ITO, H. & T. SAITO, – 1956b. Factors responsible for the sex expression of Japanese cucumber IV. J. hort. Ass. Japan 25: 141–151. Ref. Hort. Abstr. 1957, 27: 231.

ITO, H. & T. SAITO, – 1957a. Factors responsible for the sex expression of Japanese cucumber V. J. hort. Ass. Japan 25: 213–220. Ref. Hort. Abstr. 1957, 27: 553.

ITO, H. & T. SAITO, – 1957b. Factors responsible for the sex expression of Japanese cucumber VI. J. hort. Ass. Japan 26: 1–8. Ref. Hort. Abstr. 1958, 28: 68.

KOSOLAPOFF, G. M., – 1948. Effect of methylene blue on sex formation in cucumber. Doklady akademie Nauk S.S.S.R. 59: 995–998. Ref. Chem. Abstr. 1948, 42: 6892.

LAIBACH, F. & F. J. KRIBBEN, – 1950. Der Einfluss von Wuchsstof auf das Geslecht der Blüten bei einer monözischen Pflanze. Beitr. Biol. Pflanzen 23: 64–67.

NITSCH, J. P., E. B. KURTZ, J. L. LIVERMAN & F. W. WENT, – 1952. The development of sex expression in cucurbit flowers. Am. J. Bot. 39: 32–43.

SHIFFRISS, O. & E. GALUN, – 1956. Sex expression in the cucumber. Proc. Am. Soc. hort. Sci. 67: 479–486.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 440–444

PROEVEN TER BESTRIJDING VAN VUUR IN TULPEN[1]

With a summary: Experiments on the control of Botrytis tulipae *in tulips*

DOOR

A. F. VLAG en A. M. HULKENBERG
Proefstation voor de Bloembollencultuur, Lisse

De symptomen van vuur in tulpen, veroorzaakt door *Botrytis tulipae* (LIB.) LIND., zijn al meer dan 100 jaar bekend. Bijzondere aandacht heeft men er echter tot voor kort niet aan gewijd. Het werd meer beschouwd als een facet van het normale afsterven van het gewas, dat al naar gelang van de weersomstandigheden, wat vroeger of later in het seizoen placht op te treden. Dit werd anders, toen de tulpen niet meer per stuk maar in massa werden verhandeld. Bijzonder voelbaar werd de schade in tijden van depressie, wanneer de kweker alle zeilen bij moest zetten om nog tot een behoorlijk gewin te raken.

HET VOORKOMEN VAN DE SCHADE

Een zeer verzorgde cultuur werd een eerste vereiste. Vruchtwisseling werd toegepast, waarbij ook de verticale vruchtwisseling, het z.g. delven, een rol ging spelen. De „stekers", planten waarbij de spruit door de sclerotiën op de bol wordt geremd of zelfs vernield, werden zorgvuldig verwijderd. Om infectie door verwelkte bloemblaadjes tegen te gaan werd zeer tijdig gekopt, werd dus de bloem, „der planten vreugt", vroegtijdig weggenomen. Aangetaste bladpunten werden voorzichtig verwijderd (het z.g. vuurpunten snijden). Vóór alles moest ook het wonden veroorzakende zandstuiven worden voorkomen, waartoe zelfs gemeenteverordeningen medewerkten. Een ideale invalspoort voor *Botrytis* wordt gevormd door beschadigingen ten gevolge van nachtvorst. Om deze te voorkomen ging men er toe over de bollen in de schuren warm te bewaren, waardoor de spruit in het voorjaar eerst later tot ontwikkeling komt. Dit „stoken" van het plantgoed werd zó vanzelfsprekend dat de plantgoedkoeling thans haast paradoxaal klinkt.

Nog had men het vuur niet overwonnen.

CHEMISCHE BESTRIJDING

Vooral na de tweede wereldoorlog kwamen de chemische bestrijdingsmiddelen naar voren en hun verschijning werd een ware zegetocht. Na enige oriënterende proeven in de voorafgaande jaren werden door het Proefstation voor de Bloembollencultuur te Lisse in het seizoen 1949–1950 een aantal grote proeven opgezet, die tot zeer duidelijke resultaten leidden (tabel 1). Door een bespuiting van het gewas werd bij deze proeven een mééropbrengst van 10 kg en meer per bed van 1 vierkante Rijnlandse Roe (14 m^2) verkregen, wat neerkwam op een oogstvermeerdering van ten minste 7000 kg per ha.

[1] Aangenomen voor publikatie 15 augustus 1958.

TABEL 1. Resultaten van een proef ter bestrijding van *Botrytis tulipae* in tulpen.
Results of an experiment on the control of Botrytis tulipae *in tulips.*

Fungicide	Plantgewicht in kg *Planting weight*	Oogstgewicht in kg *Lifting weight*	Gewichtsvermeerdering *Increase in weight*		Aantal bollen van sortering: *Number of bulbs of grades:*				Totaal aantal bollen *Total number of bulbs*	Gewicht rest. plantgoed in kg *Weight remaining bulbs in kg*
			in kg	in %	13	12	11	10		
Onbehandeld	17,30	28,90	11,60	67,1	92	129	412	143	776	9,30
ferbam I 0,2 %	17,30	36,30	19,00	109,8	214	316	291	72	893	9,10
ferbam I 0,5 %	17,30	40,10	22,80	131,8	330	373	147	67	916	9,30
ferbam I 0,8 %	17,30	40,40	23,10	133,5	341	337	189	35	902	9,70
ferbam II 0,2 %	17,30	39,20	21,90	128,9	298	334	219	53	904	9,60
ferbam II 0,5 %	17,30	41,40	24,10	139,3	341	342	173	64	920	9,90
ferbam II 0,8 %	17,30	40,60	23,30	134,7	357	317	175	140	989	9,80
zineb 0,2 %	17,30	42,20	24,90	143,9	375	320	177	56	928	10,00
zineb 0,5 %	17,30	45,00	27,70	160,1	448	287	134	42	911	11,40
zineb 0,8 %	17,30	45,00	27,70	160,1	438	285	152	44	919	10,70
thiram 0,2 %	17,30	38,90	21,60	124,9	286	350	225	54	915	9,50
thiram 0,5 %	17,30	41,40	24,10	139,3	351	341	180	37	909	9,90
thiram 0,8 %	17,30	44,80	27,50	159,0	449	296	144	46	935	10,60

ferbam = ferridimethyl-dithiocarbamaat
zineb = zinkdimethyl-dithiocarbamaat
thiram = tetramethyl thiuram-disulfide

Een dergelijk resultaat was met een bemestingsproef nog nooit bereikt! Na deze joyeuse entrée werd het „spuiten" algemeen gebruikelijk.

Omdat Bordeause pap („koper en kalk") al sinds lang bij de hyacintencultuur ingang had gevonden, lag het voor de hand, het eerst te denken aan het toepassen van een koperhoudend fungicide. Tulpen bleken koper echter zeer slecht te verdragen. Ook salicylanilide en kwikhoudende middelen stelden teleur. De laatste werkten sterk remmend, vooral ook op de broeicapaciteit van de bollen, die – en hier horen we de zo vaak herhaalde woorden van Prof. VAN SLOGTEREN nog naklinken – van zo'n buitengewoon belang is! Tulisan, een oud type thiram bevatte slechts 18 % werkzame stof en gaf toch in hogere concentratie dan 0,8 % beschadiging. Ook dit stelde dus teleur.

Het zijn voornamelijk de volgende groepen, die in de afgelopen tien jaar met gunstig resultaat bij het Proefstation de revue gepasseerd zijn: ferbam, zineb, maneb, thiram en de z.g. „gecombineerde middelen", waarbij vooral de drie eerstgenoemde verbindingen in bepaalde combinaties gebruikt werden.

Het Proefstation ging uit van een bespuitingsfrequentie van ongeveer tweemaal vóór en driemaal na de bloei, afhankelijk van de weersomstandigheden. Z.g. tijdstippenproeven, uitgevoerd in samenwerking met de Plantenziektenkundige Dienst, hebben wel enigszins verduidelijkend gewerkt, maar toch niet tot zeer positieve resultaten geleid. In de praktijk werd aanvankelijk soms veel vaker gespoten en er zijn nog wel kwekers, die de frequentie hoog opvoeren. Zij menen er echter wel bij te varen en de individuele vrijheid van de kweker laat ten enenmale niet toe, deze handelswijze te ridiculiseren. In de regelmatig

verschijnende „Mededeling" vindt de kweker de proefveldresultaten bijeen. Het grote voordeel van feiten is, dat deze aanleiding geven tot denken. Zo zal de kweker zelf moeten nagaan, wat hij meent dat voor hèm op zijn bedrijf van belang kan zijn.

De gunstigste spuitconcentratie was ongeveer 0,4 %. Toen overgegaan werd tot nevelen, hetgeen arbeidsbesparing gaf en waardoor overmatige bevochtiging van het gewas werd voorkomen, werd een concentratie van ongeveer 3 % aangehouden. Hogere concentraties hadden op het zand nog verbetering van de stand van het gewas tot gevolg; op de klei werd echter een geringe daling opgemerkt. Bij vaak herhaalde hoog geconcentreerde bespuitingen met ferbam stond het gewas „zo groen als prei". Ook het donkere residu werkte hier in het voordeel. Het „ijzer" scheen de groene kleur te fixeren, want de bol bleek reeds rijp en het kruid dood als het nog steeds niet geheel bruin was gekleurd. Dit had te laat rooien en loshuidigheid („kale tulpen") ten gevolge.

Zineb en maneb werkten een onregelmatig afrijpen in de hand. Ook hier dus „kale bollen", terwijl bij de voortschrijdende droogverkoop („doosjespakkerij") een goede huid mede (dus zeker niet alléén) van zeer groot belang is. Thiram had vooral bij hogere concentraties een zeer gunstig effect.

Men meende wel eens, dat op sommige gronden ferbamhoudende middelen en op andere zinebpreparaten tot een hogere opbrengst leidden. Het elders naar voren gebrachte bestaan van „ijzer- en zinktuinen" kon op het Proefstation nimmer worden bewezen. Toch voerden de gecombineerde middelen, die vooral uit ferbam, zineb en soms ook mangaanverbindingen bestonden, tot zeer fraaie resultaten, al werden tussen deze middelen onderling nooit wiskundig betrouwbare verschillen geconstateerd.

VERMEENDE BEZWAREN

Natuurlijk werden problemen, waarvoor men niet ogenblikkelijk een oplossing wist, aan de vermeende spuit- en nevelmanie, aan „die spuiterij" toegeschreven. Het nogal naar voren tredende „zuur" zou bij voorbeeld een gevolg daarvan zijn. Sinds Drs. A. F. G. Slootweg van het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek een *Fusarium* isoleerde en richting gaf aan de preventieve bestrijding, had deze aanklacht afgedaan. Bij de proeven op het Proefstation is van een correlatie tussen „spuiten" en het aantal zure tulpen nooit iets gebleken.

Nimmer is ook enig verband tussen „spuiten" en het „blauw groeien" vastgesteld. Zolang de onderzoekingen aangaande het „blauw" op het Laboratorium nog niet geheel zijn afgesloten, zal de kweker zich het beste kunnen houden aan het voorlopig advies, bij gevoelige rassen al te weelderige groei te voorkomen. In hoeverre daarbij ook de nevelspuit betrokken moet worden, zal de kweker zelf dienen na te gaan.

Dat spuiten met zineb en maneb „slechte huiden" kan geven, werd al eerder vermeld. Van de andere middelen kan zulks bij goed gebruik niet worden gezegd.

In het seizoen 1953–1954 werd voor het eerst een nevelproef gecombineerd met een bolontsmettingsproef, zulks op een „oude" en een „verse", gedolven akker (tabel 2). De veel hogere opbrengsten van de gedolven akker sprongen in het oog. Verder bleek, dat met uitzondering van de controle (oude akker) alle veldjes „over de kop" waren gegroeid, wat wil zeggen, dat er tweemaal zoveel geoogst werd als werd uitgeplant. De bollen, die met een kwikhoudend

middel waren ontsmet, hadden in het algemeen een mooiere huid. De bollen van de alleen benevelde veldjes vertoonden tegenover de eerstgenoemde iets meer groeischeuren.

TABEL 2. Resultaten van een proef ter bestrijding van *Botrytis tulipae* in tulpen op een „oude" en een „verse" akker.
Results of an experiment on the control of Botrytis tulipae *in tulips, on an "old" field and a "fresh" field.*

	Gewichtsvermeerdering			
	Oude akker *Old field*		Verse akker *Fresh field*	
	in kg	in %	in kg	in %
1. Onbehandeld / *untreated*	12,6	97	21,3	163
2. 5 × nevelen / *low volume spraying*, ferbam 4%	17,6	136	27,6	214
3. 20 min. dompelen in ¼ % kwikhoudende bloembollen-ontsmetter I/*dipping for 20 min. in mercurial disinfectant I*	13,1	101	19,5	151
4. als 3, + 5 × nevelen/ *as 3, + 5 × low volume spraying*	19,5	151	27,2	210
5. 20 min. dompelen in ¼ % kwikhoudende bloembollen-ontsmetter II/*dipping for 20 min. in mercurial disinfectant II*	15,2	118	19,9	154
6. als 5, + 5 × nevelen/*as 5, + 5 × low volume spraying*, ferbam 4 %	21,4	166	24,3	188
Totaal	99,4	128	139,8	180

Dat de bollen zó krachtig groeiden, dat zeer royale ziftmaten werden verkregen, terwijl soms de vraag naar kleinere maten groter was, is een handelsaangelegenheid en mag niet als bezwaar tegen de chemische bestrijding van vuur naar voren worden gebracht.

WORDT DE BROEI VERTRAAGD?

Een ernstig nadeel van het spuiten en nevelen zou het zijn, als de broei er door vertraagd zou worden, hetgeen aanvankelijk wel verwacht werd. Juist de steeds herhaalde waarschuwing van Prof. VAN SLOGTEREN, dat de klant in deze niet bedrogen mag uitkomen, deed ons besluiten op alle spuitproeven broeiproeven te doen volgen. In 1950 stelden wij reeds vast, dat tulpebollen van een gespoten gewas niet later waren dan die van een onbehandeld gewas. Ook in het daarop volgende seizoen bleven de „behandelde" noch in bloeitijdstip, noch in kwaliteit der bloem bij de „onbehandelde" achter. De stand der eerste leek zelfs nog beter dan die van de laatstgenoemde. Ook daarna werden deze bevindingen steeds bevestigd.

Het bespuiten of benevelen van tulpen met fungiciden heeft tot grote resultaten geleid. Dat de vrees voor het „vuur" is overwonnen, blijkt wel uit het feit dat men aan plantgoedkoeling durft te denken om de bloemaanleg te vervroegen en dus het broeivermogen te vergroten. Vrees voor een vroege vuurinfectie heeft men niet meer, omdat men weet dat men te allen tijde de „spuit" bij de hand heeft.

EEN PSYCHOLOGISCH BEZWAAR

Een wezenlijk bezwaar tegen de „spuiterij" ligt op een geheel ander terrein, en wel op het psychologische. Er zijn kwekers, die, overmoedig geworden door de behaalde resultaten, het gevaar van vorst en stuiven onderschatten. De vruchtwisseling nemen zij niet meer zo nauw en het zoeken naar stekers vinden zij eigenlijk overbodig. Zo'n slordigheid in de cultuur vormt een enorm gevaar. Niet het zoeken naar chemische middelen zal thans de eerste taak van de onderzoeker en de voorlichter moeten zijn. Veeleer zal hij er (met Prof. VAN SLOGTEREN!) steeds op moeten wijzen, dat een zeer verzorgde cultuur te allen tijde een allereerste vereiste is. Het op de markt verschijnen van steeds meer bestrijdingsmiddelen zou zelfs achteruitgang betekenen, indien intussen de liefdevolle zorg van de kweker voor zijn gewas daarbij verloren zou gaan.

SAMENVATTING

Hoewel door het nemen van cultuurmaatregelen (vruchtwisseling, verwijderen van „stekers", vuurpunten snijden, vroegtijdig koppen en stoken) het vuur in tulpen ten dele kan worden voorkomen, wordt het eerst doeltreffend bestreden met behulp van fungiciden.

In proeven met respectievelijk ferbam, zineb en thiram werden meeropbrengsten verkregen van ten minste 7000 kg per ha (tabel 1).

Het combineren van behandeling met fungiciden met bolontsmetting gaf een sterk vermeerderde opbrengst, in het bijzonder op „verse" akkers (tabel 2).

SUMMARY

Damage caused by *Botrytis tulipae* in tulips can be prevented to some extent by cultural measures, such as crop rotation, removal of bulbs that have failed to grow and infected leaves, early cutting of the flowers and heat treatment of the bulbs.

Fully successful control, however, can be achieved only by application of fungicides. In experiments with ferbam, zineb and thiram the yield of bulbs increased by at least 7000 kg per ha (table 1).

Treatment of the growing plants, combined with disinfection of the bulbs, resulted in greatly increased yields, especially in „fresh" fields (table 2).

T. Pl.ziekten 64 (1958): 445–451

ENKELE ZIEKTEPROBLEMEN BIJ BLOEMBOLLEN[1]

With a summary: Some problems regarding diseases of flower bulbs

DOOR

A. F. G. SLOOTWEG

Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse

Wanneer men een gespecialiseerd werk over ziekten in bloembollen (en -knollen) opslaat en daarin een indrukwekkende lijst van kwalen vindt, ontkomt men niet aan de gedachte, dat bloembollen kweken een bezigheid is, welke grote verliezen kan opleveren door het optreden van soms snel om zich heen grijpende ziekten, die vaak ook de grond infecteren en daardoor latere teelten van bloembollen op deze besmette grond in gevaar kunnen brengen. De kweker krijgt dan dikwijls de raad, om de aangetaste planten te verwijderen en te vernietigen, of om de gezonde bollen op onbesmette grond te planten.

Gelukkig behoeft bovenstaand, niet bepaald bemoedigend advies, tegenwoordig niet zo veelvuldig gegeven te worden als enkele tientallen jaren geleden. Intensief wetenschappelijk onderzoek, gepaard gaande met weldoordachte praktijkproeven, heeft gelukkig vele problemen nader tot een oplossing gebracht, wat niet wil zeggen, dat voor alle ziekten een oplossing gevonden is.

Een belangrijke bijdrage tot het beteugelen van ziekten in bloembollen wordt geleverd door de moderne planteziektenbestrijdingsmiddelen. De oude vruchtwisselingsmethode – in de geest van: tulpen, hyacinten, narcissen, aardappelen met vaak het land een jaar braak laten liggen – wordt niet meer toegepast; de teelt van aardappelen op bloembollengronden is vrijwel verdwenen en de kweker laat zijn kostbare land niet meer onbeteeld liggen.

Het ligt dan ook voor de hand, dat het gebrekkige vruchtwisselingsschema van zeer nauw verwante gewassen (vergelijk: graangewassen, suikerbieten, aardappelen, peulvruchten, of iets dergelijks) en de meer intensieve teelt de bloembollenkweker eerder naar bestrijdingsmiddelen moet doen omzien. Daarbij komt nog, dat ook de cultuurmethoden de laatste jaren sterk veranderd zijn: bloembollen kweken wordt steeds meer „plant-industry". Zo is door een meer geperfectioneerde teelt de tijd, waarin een hyacintebol tot volle wasdom komt, van vijf jaar teruggebracht tot drie jaar. Het aantal leverbare tulpen per plantbed is door diverse maatregelen sterk vergroot. Diverse narcisserassen werden vroeger als tweejarig gewas geteeld; dit komt tegenwoordig niet meer voor; elk jaar rooien en een doelmatige behandeling van de bollen heeft hier ook tot hogere opbrengsten geleid.

Het diep omdelven van bloembollengronden, een ziektebestrijdingsmaatregel bij uitstek, is gemechaniseerd, terwijl steeds meer op gronden geteeld wordt, welke niet diepgespit kunnen worden. Het met de hand planten van bloembollen, waardoor een nauwgezette controle van het gewas in het voorjaar mogelijk is en alle, als infectiebronnen fungerende, zieke planten verwijderd kunnen worden, wordt meer en meer vervangen door machinaal planten, wat het nalopen van het gewas op ziekten ernstig kan bemoeilijken.

[1] Aangenomen voor publikatie 15 augustus 1958.

Onderwijs en voorlichting hebben er toe bijgedragen, dat de kweker bij afwijkingen in zijn cultures, zich gaat afvragen, wat hiervan de oorzaak kan zijn. Vroeger schreef hij deze gemakkelijk toe aan b.v. ondeugdelijke kwaliteit van de mest of ongunstige weersomstandigheden en hoopte hij maar op een beter gewas in het volgende jaar.

Tenslotte maakt de scherpere concurrentie van buitenlandse cultures het meer dan ooit noodzakelijk, dat de bloembollenkweker een produkt aflevert, dat gezond is en aan hoge eisen van kwaliteit voldoet, terwijl de instanties in het buitenland, die belast zijn met het toezicht op de gezondheidstoestand van onze bloembollen, steeds nauwlettender gaan toezien, of deze inderdaad vrij zijn van ziekten.

In het bestek van dit artikel is het niet mogelijk, om alle voorkomende ziekten aan een nadere beschouwing te onderwerpen; daarom moet met een vrij willekeurige keuze volstaan worden.

Van de schimmelziekten nemen die, welke door *Fusarium*-soorten veroorzaakt worden, misschien wel de belangrijkste plaats in. In de meeste gevallen is hierbij steeds sprake van een aantasting van de bollen of knollen. De belangrijkste uitzondering hierop is het wortelrot van hyacinten, veroorzaakt door *Fusarium culmorum* (Sm.) Sacc. Tot nu toe werd de ziekte bestreden door het gieten van een oplossing van formaline in het gereedgemaakte plantbed, vlak voor het planten. Hoewel deze bestrijdingsmethode bezwaren heeft, zijn de resultaten bevredigend. Eén van de moeilijkheden bij deze werkwijze is het tegenhouden van de wortelontwikkeling van de bollen. Hyacinten, waarvan de wortelkrans bij het planten niet meer voldoende in rust is, kunnen in droge najaren ernstige schade van deze grondontsmetting met formaline oplopen. Daarnaast is formaline, ook in de hoogst toelaatbare doseringen, niet meer voldoende werkzaam tegen een zware besmetting van de grond met *F. culmorum*. Uit proefnemingen en gebruik op praktijkschaal is gebleken, dat chloorbroompropeen (C.B.P.) belangrijk betere resultaten geeft dan de behandeling met formaline. Ook natrium N-methyldithiocarbamaat (Vapam) kan, onder voor dit middel gunstige omstandigheden toegepast, gecombineerd met ontsmetting van de grond met formaline bij het planten, gunstige resultaten geven; hetzelfde geldt zeer waarschijnlijk voor3-5-dimethyltetrahydro-1-3-5-2H-thiodiazine-2-thion (N 521, 593 S). Opgemerkt zij nog, dat één van de moeilijkheden bij de grondontsmetting tegen wortelrot in hyacinten gelegen is in het feit, dat de middelen de in de grond aanwezige schimmel zeer grondig moeten doden tot grote diepte, of de groei van de schimmel voor lange tijd onmogelijk moeten maken. Wortelrot in hyacinten treedt meestal op na half mei, terwijl de gronden het jaar tevoren in augustus-september ontsmet worden.

Van meer belang nog is de aantasting van bollen of knollen door *Fusarium*-soorten. De belangrijkste ziekten zijn: bolrot in narcissen (*Fusarium bulbigenum* Cke et Massee), zuur in tulpen (*Fusarium oxysporum* Schlecht.), *Fusarium*-aantasting van gladiolen (*Fusarium oxysporum* Schlecht. var. *gladioli* Massey) en misschien in toenemende mate *Fusarium* in irissen (*Fusarium oxysporum* Schlecht.). Dit zijn vaak zeer hardnekkige „partijziekten", zonder dat hierbij waarschijnlijk een infectie uit of via de grond een belangrijke rol speelt.

Hoewel het onderzoek nog niet geheel is afgesloten, is vast komen te staan,

dat bij het zuur van tulpen de infectie aan het einde van het groeiseizoen van de resten van de oude bol overgaat op de jonge, nieuwgevormde bol, welke dan aan de basis aangetast wordt. In dit stadium spelen klimatologische factoren een zeer belangrijke rol; hoge temperatuur en vochtigheid van de grond kunnen de kwaal zeer in de hand werken. Bepaalde cultuurmaatregelen, welke een verlaten van de afsterftijd ten gevolge hebben en soms gecombineerd worden met het verwijderen van het nog groene loof, kunnen in de hand werken, dat de nog niet „afgerijpte" tulpebollen zeer gemakkelijk door *Fusarium* aangetast worden. Ruw behandelen van pas gerooide bollen kan „secundaire" infectie via wonden ten gevolge hebben, terwijl tenslotte hoge temperaturen en veel vocht tijdens de bewaring de ziekte desastreus kunnen doen worden. Gecombineerd met de juiste wijze van behandelen van de tulpen tijdens en na het rooien, geeft uitzoeken van de partijen en ontsmetten van het plantgoed met een kwikhoudend middel goede resultaten.

Mutatis mutandis gelden de gemaakte opmerkingen over het zuur in tulpen ook voor aantastingen van de andere genoemde gewassen met *Fusarium*. Een extra moeilijkheid geeft bij narcissen en irissen de veelvuldig toegepaste warmwaterbehandeling. Hoewel proefnemingen van het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek uitgewezen hebben, dat in partijen narcissen met bolrot, na een warmwaterbehandeling, de ziekte niet in een hoger percentage optrad, komen van praktijkzijde vaak tegengestelde beweringen. Het is niet uitgesloten, dat de oorzaak van de klachten van de kwekers gelegen is in het feit, dat het bad, waaraan een kwikhoudend ontsmettingsmiddel toegevoegd is, niet voldoende ververst wordt. Uit de praktijk is ook bekend, dat het niet toevoegen van een ontsmettingsmiddel bij de warmwaterbehandeling van irissen, het optreden van *Fusarium oxysporum* zeer kan bevorderen.

Met uitzondering van een door *Fusarium* veroorzaakte bladvlekkenziekte bij tulpen, welke in sommige jaren bij het in bloei trekken een rol kan spelen, blijft de aantasting door deze schimmel beperkt tot de ondergrondse delen. Geheel anders is dit bij het optreden van schimmels van het geslacht *Botrytis* bij bloembollen; behalve bollen en knollen hebben ook bovengrondse delen van de plant vaak zeer ernstig van deze schimmels te lijden.

Naast de meest bekende *Botrytis*-aantasting in tulpen, het z.g. vuur (*Botrytis tulipae* (Lib.) Lind.), komt deze ziekte o.a. voor in narcissen (*Botrytis narcissicola* Kleb.), als smeul op de bollen of vuur in het kruid, vuur in hyacinten (*Botrytis hyacinthi* Westerd. et v. Beyma), vuur in crocussen (*Botrytis croci* Cke. et Mass.) en vuur in gladiolen (*Botrytis gladiolorum* Timmermans).

In het voorjaar geven door *Botrytis* aangetaste tulpebollen een spruit, waarop mycelium en veel, vrij kleine sclerotiën, (z.g. stekers) voorkomen. Het mycelium, dat uit deze sclerotiën groeit, vormt snel conidiën; regen en wind helpen de conidiosporen verspreiden; op de bladeren en vooral op de bloemen worden dan binnen een paar dagen z.g. pokken zichtbaar. Wanneer de ongunstige weersomstandigheden aanhouden, kunnen op de aldus ontstane aantastingen van blad en bloem rijkelijk sporen van de schimmel ontstaan en de ziekte weer verder doen uitbreiden. Op deze manier kan het gewas snel te gronde gaan. De schimmel tast van het kruid uit de nieuwe bol aan, die in het volgende seizoen weer als infectiebron fungeert.

Botrytis tulipae kan zich min of meer als „zwakteparasiet" gedragen; ook via wonden dringt de schimmel gemakkelijk binnen. Onder ongunstige omstandig-

heden kan schade, ontstaan door nachtvorsten of zandstormen, belangrijk grotere afmetingen aannemen door het later optreden van vuur.

De bestrijding van het vuur in tulpen wordt o.a. gezocht in het voorkomen van, voor de plant ongunstige omstandigheden en het bevorderen van een snelle groei. Daartoe worden b.v. de bollen na het rooien tot de planttijd bewaard bij een temperatuur van 20 tot 23°C. Hierdoor komen de tulpen in het voorjaar aanmerkelijk later op, wat de risico's van nachtvorst verkleint, terwijl een dergelijk gewas sneller en beter groeit. Daarnaast zijn spuitmiddelen onontbeerlijk. Tegenwoordig worden hiervoor algemeen carbamaten gebruikt (meest ijzercarbamaten). Deze middelen voldoen bij de bestrijding van het vuur in tulpen bijzonder goed. Al zijn deze bespuitingen echter nog zo goed, toch kunnen fytosanitaire maatregelen nooit nagelaten worden. Zo worden tulpen geplant op zandgronden, welke diep omgeploegd of gespit zijn, om er zeker van te zijn, dat geen sclerotiën van de schimmel in de bovenlaag aanwezig zijn. Bovendien wordt voor het afdekken van de tulpebedden in de winter altijd vers riet gebruikt. Op klei- of veengronden is dit diep omwerken van de grond niet mogelijk; over het algemeen heeft men hier echter ruimere vruchtwisselingsmogelijkheden.

In tegenstelling met de tulpen, waar men door het nemen van de juiste maatregelen het vuur kan beperken, zien wij, dat dit met andere gewassen niet zo eenvoudig is. Zo heeft het spuiten van narcissen tegen vuur tot nu toe nog geen goede resultaten opgeleverd. De oorzaak hiervan kan gelegen zijn in het feit, dat niet op het juiste tijdstip wordt gespoten. Het is niet uitgesloten, dat narcissen zeer vroeg gespoten moeten worden: zodra door *Botrytis* aangetaste spruiten boven de grond komen, gaan zich hierop conidiën vormen. Mogelijk heeft spuiten aan het eind van het groeiseizoen ook effect, omdat dan op het loof rijkelijk sporen van *Botrytis narcissicola* gevonden worden.

Ook in de crocuscultuur kan het vuur (*Botrytis croci*) ernstige vormen aannemen, vooral de gele rassen zijn zeer gevoelig. Dit is eveneens het geval bij gladiolen, waar echter door een vakkundige behandeling van de knollen tijdens en na het rooien veel aantasting van de tot dat moment vaak nog gezonde knollen voorkomen kan worden.

Een speciaal probleem vormt de aantasting van *Galanthus nivalis* door *Botrytis galanthina* (Berk. et Br.) Sacc. Hier hebben wij te maken met een *Botrytis*-aantasting, welke zich zeer waarschijnlijk geheel via de grond verspreidt (afgezien van overbrengen met besmet plantgoed) en de jonge spruiten aantast, zodra deze uit de bolletjes groeien. Sneeuwklokjes worden hoofdzakelijk in bossen geteeld, waar het volslagen onmogelijk is de grond met chemicaliën te behandelen. De teelt is meestal driejarig, wat maakt, dat een *Botrytis*-aantasting in die tijd enorm om zich heen kan grijpen. Daarbij komt, dat de planten gemakkelijk kiemkrachtig zaad vormen en de bollen vaak zeer vele kleine, jonge bolletjes vormen. Het is voor de kweker dan ook niet mogelijk een terrein, waar drie jaar sneeuwklokjes gestaan hebben, goed schoon te rooien. Op deze manier krijgt de grond echter geen „rust" en kan de schimmel zich gemakkelijk in stand houden en zelfs uitbreiden op het achtergebleven opslag. Er worden proeven genomen met middelen, om deze opslag te doden (zonder dat de bomen hiervan schade ondervinden), terwijl onderzoek uit moet wijzen of een rustperiode van drie of vier jaren voldoende is, om *Botrytis galanthina* uit de besmette grond te doen verdwijnen. Daarnaast wordt aandacht geschonken aan het zuiveren en ontsmetten van het plantgoed.

Wat de ziekten veroorzaakt door nematoden betreft, kunnen wij gelukkig constateren, dat het aaltjesziek van narcissen en hyacinten nog maar sporadisch voorkomt. Slechts in een bepaalde streek met een zeer vochtige, veenachtige bodem is het aaltjesziek in narcissen nog van enige betekenis; helaas kunnen veengronden niet diep omgespit worden. Naast een warmwaterbehandeling van de bollen, is diepspitten van de grond een noodzakelijke maatregel om een besmette tuin weer vrij van *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev te maken.

In Engeland had men in dergelijke gevallen goede ervaringen met grondontsmetting met behulp van DD. Van de narcissen, geplant op behandelde percelen, plukte men weer een goede oogst bloemen. Ontsmetting van de grond met nematiciden in Nederland, proefsgewijs toegepast bij de bestrijding van aaltjesziek in narcissen, gaf ook goede resultaten, met dien verstande, dat de narcissen van de onbehandelde veldjes zwaar aangetast waren, terwijl de bollen van de met DD behandelde veldjes de ziekte slechts licht vertoonden. Aangezien wij een gezond produkt moeten exporteren, moesten dus ook deze licht aangetaste bollen afgekeurd worden en was de grondontsmettingsmethode tegen *Ditylenchus dipsaci* voor ons ongeschikt.

Een soortgelijke ervaring hebben wij opgedaan met het spuiten van antibiotica tegen *Xanthomonas hyacinthi* (Wakk.) Dowson in hyacinten. De bespuitingen hadden als resultaat, dat de zwartrandaantasting van het blad belangrijk minder kon zijn. De eigenaardige bouw van de hyacinteplanten maakt echter, dat bij regenweer de bacteriën gemakkelijk tot diep in de kruidkoker spoelen en vandaar tot de bollen door kunnen dringen. Er was dan ook, wat het aantal door geelziek aangetaste bollen betreft, geen verschil te constateren tussen wel en niet met antibiotica bespoten hyacinten.

Terugkerend tot de aaltjesziekten: dank zij de verplichte warmwaterbehandeling is het enige jaren geleden nog vrij hevig optredende aaltjesziek in irissen (*Ditylenchus destructor* Thorne) beteugeld; de verwachting is gewettigd, dat dit binnenkort eveneens het geval zal zijn bij de aantasting van enkele z.g. botanische tulpesoorten door *Ditylenchus destructor* en het aaltjesziek van crocussen (*Aphelenchoides subtenuis* (Cobb) Steiner et Buhrer).

Bodemmoeheidsverschijnselen bij bloembollen door *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Sher et Allen en *Rotylenchus robustus* (de Man) Filipjev (syn. *Hoplolaimus uniformis* Thorne) zijn op zandgronden zeer goed te bestrijden met DD. Zo komt wortelrot in narcissen of wortelrot in lelies (*Lilium speciosum* Thbg. cv *rubrum* Mast.) vrijwel niet meer voor. Een moeilijkheid bij de grondontsmetting blijven de zavelige (kleihoudende) en veengronden.

Tenslotte is het interessant, na te gaan, in hoeverre de gezamenlijke inspanningen van wetenschappelijke onderzoekers, Voorlichtingsdiensten, Bloembollenkeuringsdienst en Plantenziektenkundige Dienst, gevoegd bij de moeiten, welke kweker en exporteur zich geven om een gezond produkt van goede kwaliteit aan de klanten in het buitenland af te leveren, resultaten opleveren.

In de seizoenen 1956–57 en 1957–58 kwamen bij het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek 186 klachten uit het buitenland binnen. Voor het overgrote deel zijn deze klachten afkomstig van afnemers, welke bloembollen voor speciale doeleinden gebruiken, nl. voor het vroeg in bloei trekken. De meeste moeilijkheden hingen dan ook met dit forceren samen. In 36 gevallen bleek, dat de bollen bij de kweker of de exporteur niet de juiste behandeling voor dit in

bloei trekken gehad hebben. Hieronder zijn echter ook alle gevallen van z.g. stronagels bij hyacinten en kernrot in tulpen begrepen, twee afwijkingen, welke juist in de genoemde seizoenen nogal eens moeilijkheden opleverden en zeer waarschijnlijk het gevolg zijn van een onjuiste temperatuurbehandeling van de hyacinten en tulpen tussen rooien en planten. In 26 gevallen bleek, dat de afnemer de bollen onjuist behandeld had of dat schade tijdens het transport ontstaan was.

Wat de klachten over ziekten met een parasitair karakter betreft, hierbij speelt *Sclerotium tuliparum* KLEB. nog altijd een belangrijke rol (19 gevallen). Nog steeds komt het voor, dat men vele jaren achtereen tulpen, welke geforceerd moeten worden, in dezelfde grond plant of op dezelfde plaats opkuilt en op die manier de schimmel accumuleert. Verversen van grond of gebruik van pentachloornitrobenzeen (PCNB) zijn hier zekere middelen om deze lastige kwaal te elimineren.

Transport van narcissebollen in ongeschikt verpakkingsmateriaal, gevoegd bij ondeskundige behandeling bij afnemer en misschien leverancier, was in 15 gevallen de oorzaak van smeul in narcissen (*Botrytis narcissicola* KLEB.), terwijl in acht gevallen in een kas met tulpen aantasting van *Botrytis tulipae* (LIB.) LIND. van betekenis was. Voor beide ziekten geldt, dat moeilijk beweerd kan worden, dat elke geëxporteerde bol vrij is van beide genoemde schimmels, maar een deskundige behandeling van de bollen door alle betrokken partijen zal tengevolge hebben, dat deze ziekten geen rol van betekenis behoeven te spelen. Het optreden van andere schimmelziekten was slechts sporadisch.

De gezamenlijke inspanningen van allen, die te waken hebben over de gezondheid en goede kwaliteit van onze Hollandse bloembollen, zijn blijkbaar niet tevergeefs. Dit moge tot voldoening strekken en tevens een aansporing zijn, om ook in de toekomst alle krachten in te spannen, om de afnemers een produkt te leveren, dat van goede kwaliteit en vrij van ziekten is.

SUMMARY

Methods of bulb growing have changed considerably in the last twenty years. Cultivation is more intensive and the striving for high yields as well as the requirements of foreign competition force the grower to be on the watch for plant diseases.

Fungi of the genera *Fusarium* and *Botrytis* especially cause many diseases of bulbs and corms. *Fusarium culmorum* (SM.) SACC., the fungus causing the rootrot of hyacinths, is controlled by soil disinfection with a solution of formaldehyde just before planting. On heavily infested soils fumigation with CBP (Chlorobromopropane), and under favourable conditions Vapam in combination with the formaldehyde treatment give more satisfactory results.

Fusarium basal rot of tulips (*Fusarium oxysporum* SCHLECHT.) is controlled by dipping the planting stock in mercurial compounds. The conditions of temperature and humidity at the end of the growing period and during storage, however, are of more importance. Rough handling of the bulbs and unfavourable conditions during storage can nullify the beneficial effects of a mercury dip.

The main *Botrytis* problem is the tulip fire (*Botrytis tulipae* (LIB.) LIND.). The retardation of the crop in spring by storage at 20–23°C of the planting stock in

the preceeding autumn to prevent damage by night frost and spraying with carbamates give a good control of this disease.

The control of *Botrytis* diseases in narcissus (*Botrytis narcissicola* KLEB.) and crocus (*Botrytis croci* CKE. et MASS.) was studied, as well as the soil-borne *Botrytis galanthina* (BERK. et BR.) SACC.

As far as nematodes are concerned, *Ditylenchus dipsaci* (KÜHN) FILIPJEV on narcissus is almost completely eradicated by giving the bulbs a hot-water treatment. Fumigation of soil infested by these nematodes gives good control, but some infected bulbs are still found.

Pratylenchus penetrans (COBB) SHER et ALLEN (root rot of daffodils and *Pratylenchus robustus* (DE MAN) FILIPJEV (syn. *Hoplolaimus uniformis* THORNE) (root rot of lilies) are well controlled by soil treatment with DD.

Thanks to the inspection work of the officials charged with plant sanitation, few cases of disease in Dutch bulbs are reported from abroad.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 452–462

RATELVIRUS ALS OORZAAK VAN ZIEKTEN IN BLOEMBOLGEWASSEN EN DE MOGELIJKHEDEN DE INFECTIE DOOR MIDDEL VAN GRONDONTSMETTING TE BESTRIJDEN[1]

With a summary: Rattle virus as the cause of diseases in flower bulbs and the possibilities of controling infection by means of soil disinfectants

DOOR

D. H. M. VAN SLOGTEREN

Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse

INLEIDING

Het voorkomen van ratelvirus in Nederland werd door QUANJER (1943) het eerst aangetoond. Hij vond het virus in tabak en bewees, dat de besmetting van de grond uitgaat. ROZENDAAL & VAN DER WANT (1948) toonden aan, dat het ratelvirus bij aardappel stengelbont teweegbrengt en voerden inoculatie-proeven op tabak en aardappel uit. NOORDAM (1956) bestudeerde het voorkomen van ratelvirus in de wortels van verscheiden soorten van onkruiden, die hij in het veld had verzameld. USCHDRAWEIT & VALENTIN (1956) isoleerden het virus uit verschillende siergewassen, die in de praktijk waren gekweekt. SCHMELZER (1957) vermeldde, dat zeer veel plantesoorten, behorende tot een groot aantal families, met behulp van sap met het ratelvirus kunnen worden besmet. CADMAN (1958) beschreef een ziekte in aardappel in Schotland, waarschijnlijk veroorzaakt door hetzelfde virus.

Door VAN SLOGTEREN & DE BRUYN OUBOTER (1941) werd melding gemaakt van het voorkomen van donkere strepen op de bloemen van verschillende tulpevariëteiten, o.a. Zenith, Wildfire en Heraut. Deze verschijnselen vertoonden enige overeenkomst met z.g. donkere breking, teweeggebracht door bepaalde stammen van het virus der gebroken tulpen. De waarneming dat de breking tot smalle streepjes beperkt bleef en het feit dat het onmogelijk was de ziekte kunstmatig op tulp over te brengen, waren echter aanleiding om deze „verdachte verschijnselen" aan een onbekende oorzaak toe te schrijven. Bij nader onderzoek, dat door DE BRUYN OUBOTER begonnen werd en door schrijver dezes voortgezet, bleek dat tabak, geïnoculeerd met het perssap van dergelijke tulpen, binnen drie dagen reageerde met typische symptomen van de ratelziekte. Inmiddels heeft de naam ratel voor de ziekte in tulpen algemeen ingang in de praktijk gevonden.

Veel langer bekend is een ziekte in de hyacintecultuur, die vanouds de naam malaria draagt en die op pas in cultuur gebrachte grond voorkwam. In recente tijd werd gevonden, dat tabak, geïnoculeerd met sap van malariazieke hyacinten, ratelsymptomen gaat vertonen. Gedurende de laatste jaren is gebleken, dat sommige incidenteel optredende mozaïekverschijnselen in andere gewassen eveneens door het ratelvirus worden veroorzaakt. Het gaat hier om *Allium moli*, *Ornithogalum thyrsoides*, *Scilla campanulata* en sommige variëteiten van *Crocus*-, *Narcissus*- en *Eremurus*-soorten.

[1] Aangenomen voor publikatie 3 september 1958.

FIG. 1.

Tulipa eichleri, geïnfecteerd met ratelvirus. Gele figuren op het loof en donkere strepen op de bloemdekbladen.

Tulipa eichleri, *infected with rattle virus. Yellow pattern on the leaves and dark stripes on the perianth.*

FIG. 2.

Tulp, var. Imperator, geïnfecteerd met ratelvirus. Lichte strepen op het loof en donkere strepen op de bloemdekbladen.

Tulip, var. Imperator, infected with rattle virus. Light stripes on the leaves and dark stripes on the perianth.

FIG. 3. Tulp, var. Brilliant Star, geïnfecteerd met ratelvirus. Donkere streepjes op de bloemdekbladen. Rechts, gezond blad.
Tulip, var. Brilliant Star, infected with rattle virus. Dark stripes on the perianth. At the right, healthy.

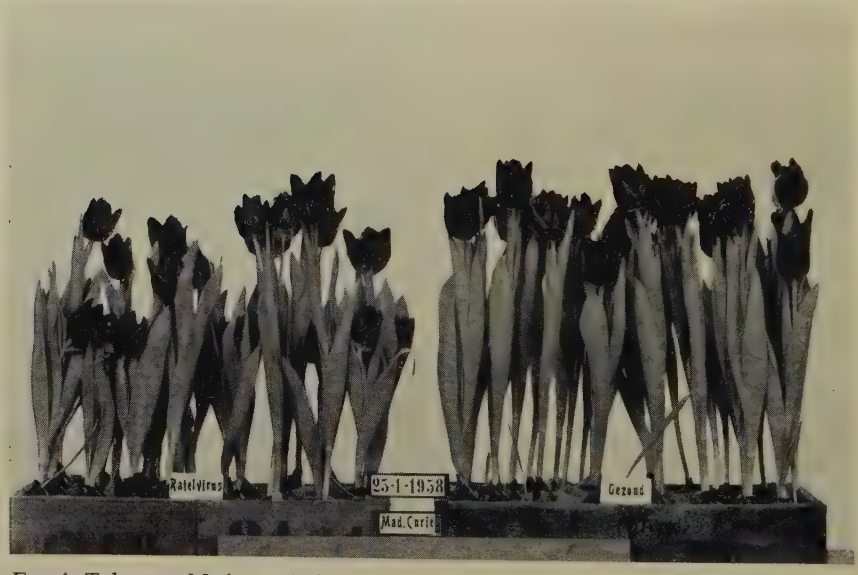


FIG. 4. Tulp, var. Madame Curie.
Links, partij afkomstig van bed, geïnfecteerd met ratelvirus; rechts, gezond.
Tulip, var. Madame Curie.
At the left, lot from bed, infected with rattle virus; at the right, healthy.

FIG. 5.

Hyacint, var. Yellow Hammer: malaria-verschijnselen.
Lichtgele figuurtjes op het loof, verenigd tot parelsnoervormige strepen. Bij dwarse doorsnede bruine vlekjes in de bolrokken.

Hyacinth, var. Yellow Hammer, infected with rattle virus. Pale yellow pattern on the leaves, fused to beaded streaks. In cross section brown necrotic spots inside the bulb.

FIG. 6.

Bladeren van *Eremurus* spec., geïnfecteerd met ratelvirus.

Leaves of Eremurus *spec., infected with rattle virus.*

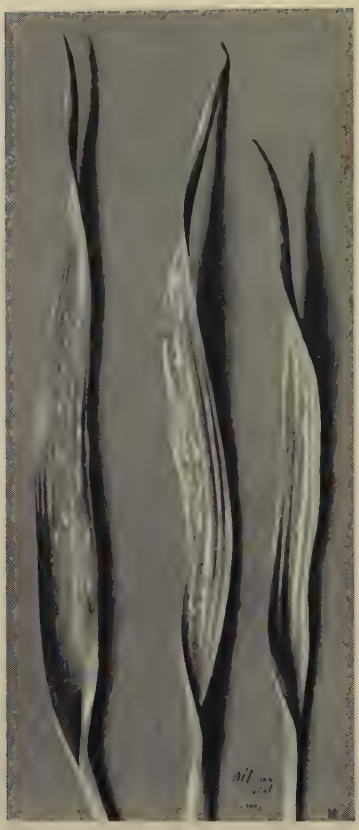


FIG. 7. Bladeren van *Allium moli*, geïnfecteerd met ratelvirus.
Leaves of Allium moli, *infected with rattle virus.*

FIG. 8. Veld met tulpen, var. White Sail; ingezonken plek ten gevolge van besmetting met ratelvirus.
Tulip field (var. White Sail); depression, caused by infection with rattle virus.

In dit artikel zullen de ziekteverschijnselen bij deze gewassen, die het gevolg zijn van infectie met ratelvirus, worden beschreven. Voorts zal worden medegedeeld hoe de aanwezigheid van dit virus in de betrokken planten werd aangetoond en op welke gronden de identiteit van het virus werd vastgesteld. Ook wordt melding gemaakt van veld- en potproeven, waarin werd geprobeerd het ratelvirus respectievelijk op natuurlijke wijze en kunstmatig op tulpen over te brengen. Ten slotte zullen de proeven aangaande grondontsmetting met chemische middelen ter sprake komen.

BESCHRIJVING VAN HET ZIEKTEBEELD OP DE VERSCHILLENDE GEWASSEN

Tulp. Op het bloemdek van roze en rode variëteiten (Zenith, Imperator) komen intens rode strepen voor (fig. 1 en 2); bij donkerrode variëteiten (Brilliant Star, *Tulipa fosteriana* var. Red Emperor (syn. Madame Lefeber), *Tulipa eichleri*) zijn de strepen bij opvallend licht bijna zwart. Witte tulpen (var. White Sail, var. Pax) vertonen glazig doorschijnende strepen van dezelfde vorm. Op de bladeren ziet men bij doorvallend licht doorschijnende, bij opvallend licht geelgroene streep- of ruitvormige figuurtjes, soms tot evenwijdig met de nerven verlopende snoeren verenigd. Bij primaire aantasting komen zij doorgaans uitsluitend voor aan de bladbasis, bij secundair zieke planten zijn zij wat verder over de bladoppervlakte verspreid (fig. 1 en 2). De variëteit Brilliant Star heeft bij primaire aantasting uitsluitend donkere streepjes op de bloemen (fig. 3). In de volgende generatie kunnen ook min of meer duidelijke bladsymptomen voorkomen. Als gevolg van besmetting treden dikwijls groeiremmingen op, kenbaar aan de gedrongen groeiwijze en verkorte bloemsteel. Bij het broeien van besmette bollen worden bloemen van veel mindere kwaliteit geproduceerd (fig. 4).

Bij de variëteit Brilliant Star komen op een bol naast de hoofdbloem soms een aantal kleinere bloemen voor. Bij primaire besmetting zijn het dikwijls deze bijbloemen welke donkere strepen vertonen, terwijl de hoofdbloem zonder symptomen is. Indien van zulke planten de nieuwgevormde bollen het volgende seizoen worden geplant, ziet men meestal dat slechts een gedeelte hiervan met ratelvirus is besmet.

Hyacint. Op de bladeren komen lichtgroene tot gele, ruitvormige figuren voor, dikwijls in snoeren verenigd tot evenwijdig met de nerven verlopende strepen (fig. 5), welke soms door necrose in een bruine kleur overgaan. Inwendig op de bolrokken kunnen donkerbruine vlekjes voorkomen, die beperkt zijn tot de dikte van één rok en zich niet voortzetten op de aangrenzende rokken. Bij afpellen van de afzonderlijke rokken ziet men bij doorvallend licht primair glazige ellipsvormige vlekjes, welke in een later stadium bruin worden door necrose.

Scilla campanulata en *Ornithogalum thyrsoides.* Het ziektebeeld komt sterk overeen met dat op hyacint.

Allium moli en *Eremurus* spec. (fig. 6 en 7). Op de bladeren gele, ruitvormige figuurtjes.

Narcis. Gele vlekjes, vooral aan de bladbasis en op de stengel.

Crocus. Gele, ruitvormige, ringvormige en boogvormige figuurtjes op de bladeren.

Voorkomen van de ziekte in het veld

In het voorjaar van 1956 troffen wij op een akker, beplant met verschillende tulpevariëteiten, een zeer duidelijk geval van pleksgewijze aantasting aan over een lengte van 25 naast elkaar gelegen bedden van een akker, die beplant was met de variëteiten White Sail en Pax. Op een oppervlakte met een lengte van ongeveer 30 m was naar schatting de helft van het gewas in groei achtergebleven. De desbetreffende planten hadden niet normaal uitgegroeide bloemstelen. De grens tussen het zieke en het gezonde gedeelte van het gewas liep grillig zigzagsgewijs dwars door de bedden heen en was tijdens de bloei van de witte tulpen duidelijk zichtbaar, doordat de langere bloemstelen van het gezonde gewas tezamen als een groene band tegen de er naast groeiende, kortere, zieke tulpen afstaken (fig. 8). Op een ander gedeelte van de akker, die met *T. fosteriana* var. Red Emperor was beplant, viel de aantasting minder op, doordat deze tulp van nature al kortstelig is, doch aan de symptomen op de bladeren van deze planten kon worden vastgesteld dat ook hier besmetting was opgetreden. Dit geval bevestigde op frappante wijze de reeds in voorgaande jaren opgedane ervaring aangaande het pleksgewijs optreden van deze ziekte.

Een aanwijzing, dat de besmetting via de grond optreedt, leverde de waarneming dat er samenhang bestaat tussen de mate van aantasting en de plantdiepte van de bollen. Deze waarneming heeft betrekking op de resultaten van een veldproef, uitgevoerd op het zojuist genoemde veld. Hier werden 300 bollen van de variëteit White Sail op normale plantdiepte (ongeveer 10 cm), 150 bollen op 5 cm diepte en 150 bollen op 22 cm diepte geplant. Bij het rooien werd van elke plant een bol bewaard en in het najaar opnieuw geplant, waarna de partijtjes op ziekteverschijnselen werden beoordeeld. De verschillen in besmetting waren zeer duidelijk, nl. 36,2 % (5 cm plantdiepte), 46,1 % (10 cm plantdiepte) en 95,1 % (22 cm plantdiepte). De zeer diep geplante bollen zijn dus het sterkst besmet geraakt.

In overeenstemming met de sterkere besmetting op grotere plantdiepte is de waarneming uit de praktijk, dat zowel ratelziekte bij tulpen als malaria bij hyacint dikwijls optreedt op nieuw, vers gedolven land of op „spuitland", waarbij de grond uit diepere lagen naar boven wordt gehaald.

Kunstmatige overdracht van het virus van plant op plant

Inoculatie van tabaksbladeren (White Burley) met sap uit planten met de beschreven symptomen, heeft binnen enkele dagen het ontstaan van de typische primaire verschijnselen van de ratelziekte tot gevolg, te weten ringvormige en soms ronde necrotische vlekken, die belangrijk groter in diameter zijn dan die welke door tabaksnecrosevirussen worden teweeggebracht. Deze overdracht van het ratelvirus uit de genoemde gewassen op tabak geschiedt bij niet te hoge temperatuur zonder enige moeite.

Spreidsymptomen op de geïnoculeerde tabaksplanten treden lang niet in alle gevallen op; meestal blijft het alleen bij verschijnselen op de geïnoculeerde bladeren. De spreidsymptomen bestaan uit donkerbruine, ingezonken plekken op stengels en hoofdnerven, benevens fijne, necrotische, meestal lichtgrijs getinte figuurtjes op de bladeren, die na de inoculatie worden gevormd. In de genoemde bolgewassen komen dus stammen van het ratelvirus voor, die zich al dan niet in

tabak kunnen verspreiden. Deze onderscheiding werd door ROZENDAAL & VAN DER WANT (1948) reeds gemaakt voor isolaties van het virus uit aardappel.

Er werd op verschillende manieren getracht, het virus van tulp op tulp en van tabak op tulp over te brengen. In de kas werd perssap van ratelzieke tulpen (variëteiten Zenith en Heraut) uitgestreken op de bladeren van virusvrije tulpen (var. Zenith, Fridjoff Nansen en Red Emperor) met gebruik van carborundumpoeder, maar in geen enkel geval werd infectie tot stand gebracht. Andere proeven, die in het veld werden uitgevoerd leverden evenmin resultaat op. Hierbij werden tulpebollen geplant in grond, waaraan tevoren hetzij fijngemaakt, hetzij intact blad van ratelzieke tabak was toegevoegd. Ook werd sap van ratelzieke tabak in de neuzen van tulpebollen ingespoten, dan wel werden de neuzen met virushoudend sap en carborundumpoeder ingewreven of werden de wortelkransen der bollen op dezelfde wijze geïnoculeerd. Een deel der proeven werd op verschillende tijdstippen in het voorjaar herhaald, doch in geen enkel geval werden infecties tot stand gebracht.

Serologische en elektronenmicroscopische waarnemingen

Antisera[1] werden verkregen door konijnen in te spuiten met partieel gezuiverd virus van tabaksplanten, die door inoculatie met sap van ratelzieke tulpen besmet waren. Ook werd een werkzaam antiserum verkregen door een konijn in te spuiten met partieel gezuiverd virus uit ratelzieke tulpebladeren (*T. eichleri*, var. Excelsa).

Bij de zuivering gaat veel virus verloren, dat tegelijk met zwaardere bestanddelen uit het perssap neerslaat, indien men bij laag toerental centrifugeert. Daarom werd het sap kort gecentrifugeerd (10 min. bij 3000 t.p.m.), het sediment gesuspendeerd in 0,85 % NaCl-oplossing (in een kwart tot een half deel van het oorspronkelijk volume sap) en deze suspensie nogmaals gecentrifugeerd, waarna de beide bovenstaande vloeistoffen bijeen werden gevoegd. Hierna werd het virus met 30 % ammoniumsulfaat neergeslagen, afgecentrifugeerd, opgelost in een vijfde deel van het oorspronkelijk volume sap en gedialyseerd, waarna vast NaCl werd toegevoegd tot een concentratie van 0,85 %. Met deze geconcentreerde suspensies werden konijnen intraveneus ingespoten. Ongeveer 16 injecties waren nodig om sera met een bruikbare titer te verkrijgen. In plaats van het virus met $(NH_4)_2SO_4$ neer te slaan, werd het ook wel – na kort centrifugeren van het sap bij laag toerental – met de ultracentrifuge gesedimenteerd. Het neerslag werd dan in een fysiologische zoutoplossing tot een vijfde deel van het oorspronkelijke sapvolume gesuspendeerd.

De verkregen sera gaven positieve reacties met helder gecentrifugeerd perssap van ratelzieke tabak of tulp (precipitatiereactie). De titers van deze sera varieerden van 1/320 tot 1/640.

Drie jaar achtereen reageerden de tegen het virus uit ratelzieke tabak gemaakte sera duidelijk positief met sap van tabaksplanten (onverdund en in een reeks van verdunningen), besmet met dezelfde isolatie als die, waartegen het serum was gemaakt. Met tabaksplanten, besmet met andere isolaties van ratelvirus, waren de resultaten wisselvallig; met sap van stengelbonte aardappelplanten werden nooit resultaten bereikt. Hoewel eerst gedacht werd dat een te geringe concentratie van het virus in deze planten de oorzaak was, is er reden om te ver-

[1] De schrijver is dank verschuldigd aan Mej. N. P. DE VOS voor de uitvoering van de werkzaamheden bij het bereiden van de sera.

onderstellen, dat ook de antigene eigenschappen van de virusstammen onderling sterk verschillen. Uitgaande van verschillende isolaties zullen meer antisera moeten worden gemaakt om klaarheid te brengen in dit probleem.

In de door partiële zuivering verkregen preparaten en ook in gedialyseerde extracten van ratelzieke tulpen, hyacinten en crocussen werden met de elektronenmicroscoop de typische korte, dikke, staafvormige deeltjes waargenomen, in vorm en afmetingen geheel identiek met die, welke door VAN DER WANT & ROZENDAAL (1948) werden gevonden in ratelzieke tabak en stengelbontzieke aardappel.

Bespreking

Uit de voorgaande onderzoekingen is gebleken, dat de beschreven ziekteverschijnselen bij de met name genoemde bolgewassen door het ratelvirus worden teweeggebracht. Hierop wijzen zowel de resultaten van de inoculatieproeven op tabak als de morfologische eigenschappen van het virus. De wisselvallige resultaten bij de vergelijking van verschillende isolaties van ratelvirus uit bolgewassen komen overeen met de ervaringen, die wij met andere isolaties van het virus verkregen en die ook door CADMAN (mondelinge mededeling, 1958) worden vermeld. Ook de besmetting van de planten, welke van de grond uitgaat, is kenmerkend voor dit virus.

Opvallend is, dat het wel gelukte het virus o.m. van tulp op tabak over te brengen, doch niet van tabak op tulp of van tulp op tulp. De besmetting van tulp kan blijkbaar niet worden verwezenlijkt door het ratelvirus op eenvoudige wijze bij of na het planten in nauw contact met de plant te brengen. Voor een natuurlijke infectie, die op bepaalde, besmette akkers plaats vindt, zijn dus blijkbaar geheel andere, thans nog onbekende factoren essentieel.

In dit verband kan een parallel worden getrokken met de ervaringen bij aardappel (ROZENDAAL & VAN DER WANT, 1948). Het gelukte nl. wel het ratelvirus van stengelbontzieke aardappelen op tabak over te brengen, doch de inoculatie van het virus op aardappel had slechts het optreden van lokale ziekteverschijnselen tot gevolg en er had in het geheel geen verspreiding van het virus in de plant plaats. Bij tulp komen zelfs na inoculatie met ratelvirus geen lokale verschijnselen tot ontwikkeling.

Zowel bij tulp als bij aardappel is de ziekte uitsluitend in de vegetatieve nakomelingschap terug te vinden als de ouderplanten op besmet terrein hebben gestaan en daar geïnfecteerd werden. Dat bij de aardappelplant het virus slechts in een deel van de geoogste knollen wordt teruggevonden, vindt eveneens zijn analogie bij de tulp. Zoals reeds bij de beschrijving van het ziektebeeld werd medegedeeld is ook hierbij soms slechts een deel van de nakomelingschap van een besmette moederbol ziek.

Al deze feiten duiden op een langzame verspreiding van het virus in de plant of op een belemmering van de verspreiding die mogelijk samenhangt met de fysiologische toestand van de plant in een bepaalde fase van haar ontwikkeling.

BESTRIJDINGSPROEVEN

Werkwijze en middelen

Op het hierboven genoemde terrein, waar de ratelziekte in het voorjaar van 1956 in sterke mate voorkwam, werd in het najaar van 1956 een veldproef uitge-

voerd. Als grondontsmettingsmiddelen werden chloorbroompropeen (C.B.P.)[1] en formaline toegepast, respectievelijk in een dosis van 1,25 l per bed (14 m²) en 3 l per bed. De middelen werden zeven weken voor het planten met een z.g. injector in de grond gebracht[2]. Er werden vijf bedden met C.B.P. en vijf bedden met formaline behandeld, terwijl vijf bedden onbehandeld bleven. Zeven weken na de behandeling werden zes bedden met de tulpevariëteit White Sail en negen bedden met de tulpevariëteit Brilliant Star beplant, zodanig dat de behandelingen gelijkelijk over deze variëteiten verdeeld waren. Per bed werden telkens 600 bollen geplant.

Bovendien werd in 1956 een proef op kleinere schaal genomen dan de vorige waarin 2 l handelsformaline (40 % formaldehyde) verdund met 20 l water direct voor het planten in het plantbed werd gegoten. Als nevenobject waren in deze proef aanwezig: injectie met formaline zeven weken voor het planten toegepast (net zoals in de vorige proef) en onbehandeld. Het ging hier om 200 planten per behandeling per variëteit (White Sail en Brilliant Star).

In 1957 werd een proef genomen op een ander stuk van het bovengenoemde besmette terrein. In deze proef werd begieten van het plantbed met formaline (in dezelfde verdunning als zojuist genoemd) kort vóór het planten vergeleken met onbehandeld laten van de grond. De gebruikte tulpevariëteiten waren ook hier White Sail en Brilliant Star. In tabel 1 is de opzet van deze proef met de verdeling van de objecten en de gebruikte variëteiten af te lezen.

Van de in de proeven gebruikte partijen waren in onbesmette grond geplaatste controlemonsters vrij van ratelvirus.

TABEL 1. Invloed van een behandeling van de grond met formaline (direct voor het planten toegepast) op de aantasting van tulpen door ratelvirus. F = behandeld met formaline: 1 l handelsprodukt op 10 l water per half bed; C = onbehandeld.

Effect of a soil treatment with formaldehyde, applied directly before planting, on the infection of tulips with rattle virus. F = treated with formaldehyde; 1 l 40 % commercial product diluted with 10 l water per half bed: C = untreated.

Varieteit *Variety*	Object	Mate van infectie * *Rate of infection* *	% ziek *diseased*	Object	Mate van infectie * *Rate of infection* *	% ziek *diseased*
Brilliant Star	F	0/420	0,0	C	11/430	2,6
White Sail	C	60/390	15,4	F	16/360	4,4
White Sail	F	6/390	1,5	C	53/420	12,6
Brilliant Star	C	19/300	6,3	F	0/300	0,0
White Sail	F	5/360	1,4	C	37/360	10,3
White Sail	C	37/390	9,5	F	12/420	2,8
Brilliant Star	F	2/300	0,7	C	39/300	13,0
White Sail	C	33/360	9,2	F	14/360	3,9
White Sail	F	4/360	1,1	C	61/360	16,9
Brilliant Star	C	39/300	13,0	F	4/300	1,3
White Sail	F	13/300	4,3	C	65/300	21,7
White Sail	C	97/300	32,3	F	8/300	2,7
Brilliant Star	F	7/300	2,3	C	51/300	17,0
White Sail	C	71/300	23,7	F	28/300	9,1
White Sail	F	59/360	16,4	C	157/330	47,6

* Aantal zieke planten op totaal aantal per half bed.
Number of diseased plants on total number per half bed.

[1] Dit middel is thans niet meer in de handel verkrijgbaar. [2] De schrijver is Drs. A. F. G. SLOOTWEG dank verschuldigd voor advies en hulp bij het injecteren van deze middelen.

Resultaten

De gegevens verkregen uit de proef waarin C.B.P., respectievelijk formaline in de grond waren geïnjecteerd, zijn in het kort als volgt. De percentages zieke planten van de vatbare variëteit White Sail waren op de onbehandelde bedden respectievelijk 73,4 en 75,4, op de twee met C.B.P. behandelde bedden respectievelijk 24,5 en 24,4 en op de twee met formaline behandelde bedden respectievelijk 84,9 en 77,6. Voor de variëteit Brilliant Star waren de besmettingspercentages belangrijk geringer, nl. 12,7 (onbehandeld), 7,1 (C.B.P.) en 10,9 (formaline). Deze cijfers zijn gemiddelden van steeds drie bedden per object.

De in 1956 genomen veldproef, waarin een verdunde formalineoplossing direct vóór het planten in de bedden werd gegoten, leverde het volgende op: White Sail, onbehandeld 61,0 %, met formaline begoten 8,2 % en met formaline geïnjecteerd (zeven weken voor het planten) 64,5 % zieke planten; Brilliant Star, onbehandeld 5,5 %, met formaline begoten 0,5 % en met formaline geïnjecteerd 6,0 % zieke planten.

De gegevens, verkregen uit de in 1957 opgezette proef, zijn in tabel 1 samengevat. Hieruit blijkt, dat bij White Sail het gemiddelde percentage ratelzieke planten in de onbehandelde halve bedden 19,9 bedraagt tegen 4,8 in de met formaline behandelde halve bedden. Bij paarsgewijze vergelijking van de percentages aantasting van „behandeld" en „onbehandeld" op de bij elkaar behorende halve bedden, bedraagt het gemiddelde verschil in percentage besmetting 15,0 $\pm$ 2,8. Voor Brilliant Star zijn de desbetreffende cijfers: onbehandeld 10,4 % tegen behandeld 0,9 % zieke planten, overeenkomend met een gemiddeld verschil in percentage besmetting van 9,5 $\pm$ 2,2.

Uit deze drie veldproeven blijkt duidelijk, dat White Sail vatbaarder is dan Brilliant Star. De behandeling met C.B.P. heeft de infectiekans verminderd; hetzelfde geldt voor een behandeling met formaline, die direct voor het planten der bollen is toegepast. Daarentegen heeft de behandeling met formaline, die zeven weken voor het planten werd uitgevoerd, geen effect gehad.

Bespreking

Opvallend is het verschil in effect tussen toepassing van injectie met formaline, zeven weken voor het planten en het gieten van formaline in het plantbed vlak voor het planten. Alleen de behandeling direct voor het planten heeft nl. een vermindering van de infectie opgeleverd. Een verklaring van dit verschil kan niet met zekerheid worden gegeven, aangezien de wijze, waarop de formaline aan de grond werd toegevoegd niet dezelfde is en er bovendien een belangrijk verschil is in het tijdstip van toepassing ten opzichte van het planten. Zeker is het, dat bij het gieten van het middel in het plantbed vlak voor het planten de laag, waarin de wortels worden gevormd, volkomen met de formalineoplossing doordrenkt is. Het is denkbaar, dat bij de injectie een deel van de formaline in diepere lagen van de grond terecht is gekomen en daardoor de werking er van niet zo sterk in de plantlaag tot uiting kwam.

Met het middel C.B.P. blijkt enige desinfectie te zijn bereikt. Het effect hiervan is echter geringer dan van het gieten met een formalineoplossing vlak voor het planten. Uit andere ervaringen met C.B.P. verkregen is bekend, dat het resultaat van de hiermee uitgevoerde grondontsmetting mede afhankelijk is van de weersomstandigheden tijdens de periode na de toepassing. De behandeling met formaline kort voor het planten heeft in twee achtereenvolgende jaren gunstig

gewerkt. Nu C.B.P. niet meer in de handel is, is er aanleiding, de werking van formaline in nieuwe praktijkproeven verder na te gaan. Aangezien formaline, afhankelijk van het tijdstip van de wortelvorming, beschadiging van het wortelstelsel teweeg kan brengen, zullen wij in de toekomst andere bodemdesinfectantia op hun effect ten aanzien van de ratelziekte, niet alleen bij tulpen, maar ook bij andere bolgewassen dienen te bestuderen.

SLOTOPMERKINGEN

Bij de bestrijding van de ratelziekte in de tulpecultuur is het van betekenis het volgende te overwegen. De primaire besmetting van de planten geschiedt van de grond uit en men kan deze infectie tegengaan door de grond te ontsmetten, b.v. door toepassing van formaline vlak voor het planten.

In ten dele besmette partijen, die op onbesmette grond werden nageteeld, werd nimmer overgang van het virus van zieke op gezonde planten geconstateerd. Is een plant besmet, dan gaat het virus dus slechts over op haar vegetatieve nakomelingschap. De ervaring heeft geleerd, dat deze nakomelingschap in sommige gevallen slechts ten dele ziek is. De waarnemingen wijzen er op, dat er van variëteit tot variëteit met betrekking hiertoe verschillen bestaan. Bij Brilliant Star b.v. is het aantal gezonde planten, voortgekomen uit een primair zieke plant, steeds groter gebleken dan bij andere variëteiten. In dit opzicht is er een analogie met de overgang van het virus van een stengelbontzieke aardappelplant op haar nakomelingschap. Ook hier gaat het virus niet voor 100 % op de nateelt over (Rozendaal & van der Want, 1948).

Doordat de ratelzieke planten over het algemeen gemakkelijk kunnen worden herkend, houdt men na verwijdering van de zieke planten een gezonde partij over. Er moet dus in hoofdzaak voor worden gezorgd, dat gezonde partijen tulpen en andere bolgewassen niet op besmette grond worden geïnfecteerd.

De ervaring, dat er op een onbesmet perceel geen infectie uitgaat van een secundair zieke plant op gezonde individuen, die in haar omgeving groeien, is belangrijk. Zij zou er namelijk op kunnen wijzen, dat er in de besmette grond factoren aanwezig zijn, die voor de infectie essentieel zijn, doch die ontbreken bij een secundair zieke plant, groeiende op onbesmette grond. Deze factoren ontbreken blijkbaar ook, als men onbesmette grond mengt met virus, zoals het zich in kunstmatig besmette tabaksplanten bevindt, en in dit mengsel bollen plant; ook dan heeft immers geen besmetting plaats.

De resultaten van de veldproeven met formaline zouden zodanig kunnen worden geïnterpreteerd, dat bij tulp de infectie met ratelvirus slechts gedurende een korte, kritieke periode mogelijk is. Formaline, zeven weken voor het planten toegepast, bleek namelijk geen aanwijsbare werking meer te hebben, doch bij toepassing vlak voor het planten in de herfst was het effect er van zeer duidelijk. Gedurende het voorjaar is infectie blijkbaar niet meer mogelijk; de periode, waarin de besmetting kan optreden, valt dus wellicht samen met die van de wortelvorming.

Een verklaring voor deze feiten zou gevonden kunnen worden door aan te nemen, dat een vector van het ratelvirus zich in natuurlijk besmette grond bevindt. Zonder deze vector – een analoge situatie wordt beschreven door McKinney et al. (1957) voor wheat mosaic en oat mosaic – zou het virus niet in de plant kunnen komen. In dit verband moet ook worden gewezen op het

negatieve resultaat van de inoculatieproeven, die er op waren gericht het ratelvirus met sap in tulp te brengen. Blijkbaar zijn in de praktijk de omstandigheden voor infectie gunstiger, o.m. door het mogelijk optreden van een vector die op verfijnder wijze dan de onderzoeker het virus in de tulp kan introduceren.

Met het oog op het bovenstaande is het de vraag of men langs kunstmatige weg alle waardplanten van het ratelvirus kan vinden, zoals door SCHMELZER (1957) is gedaan. Uit het hier beschreven werk met tulp volgt namelijk, dat een plantesoort, die onder natuurlijke omstandigheden vatbaar blijkt te zijn, kunstmatig niet geïnfecteerd kan worden.

Het is van grote betekenis, dat er methoden zijn om de aanwezigheid van het ratelvirus in de grond vast te stellen. Volgens NOORDAM (1956) kan het ratelvirus worden geïsoleerd uit de wortels van onkruiden, afkomstig van percelen waarvan bekend is dat er stengelbont of kringerigheid in aardappel op kan treden. Onkruiden (*Capsella bursa pastoris*, *Senecio vulgaris* en *Stellaria media*), verzameld op ons besmette proefveld, bleken ook ratelvirus in hun wortels te bevatten, zoals inoculaties op tabak uitwezen. Wortels van dezelfde onkruidsoorten, verzameld op onbesmet tulpeland, bleken geen ratelvirus te bevatten. Deze onkruiden, die op bijna alle plaatsen kunnen worden aangetroffen, geven de mogelijkheid de met ratelvirus besmette percelen op te sporen.

Een andere methode om het voorkomen van besmetting in de grond vast te stellen zou het planten van enkele regels van de voor ratelziekte zeer vatbare tulpevariëteit White Sail kunnen zijn. Voor dit doel moeten uiteraard bollen van virusvrije, gekeurde partijen worden gebruikt.

SAMENVATTING

Aangetoond werd, dat het ratelvirus de oorzaak is van bepaalde ziekteverschijnselen, die bij verschillende bolgewassen bekend zijn. Besmetting van tulpen kan worden tegengegaan door de bedden vlak voor het planten der bollen met een formalineoplossing (2 l handelsprodukt 40 %, verdund met 20 l water per bed van 14 m^2) te behandelen. Injectie van grond met 3 l handelsprodukt 40 %, zeven weken voor het planten uitgevoerd, had echter geen effect. Wel werd een gunstig resultaat verkregen met injectie van de grond met chloorbroompropeen (C.B.P.) (1,25 l per bed van 14 m^2), zeven weken voor het planten uitgevoerd. De bestrijding bestaat voorts uit het verwijderen van de zieke planten uit een partij.

Op grond van de resultaten van het hier beschreven onderzoek worden beschouwingen gewijd aan het mogelijk voorkomen van een vector van het ratelvirus in de grond, die essentieel is voor de infectie en aan het bestaan van een kritieke periode, waarin de besmetting plaats vindt en die mogelijk samenvalt met de periode van wortelvorming.

SUMMARY

Disease symptoms in tulips as described by VAN SLOGTEREN & DE BRUYN OUBOTER (1941) have been revealed to be caused by the rattle virus. Furthermore it could be demonstrated that the same virus causes a disease in hyacinth which has long been known to occur predominantly on newly cultivated sandy soils. In recent years this virus has been found in some species of the genera *Allium*, *Ornithogalum*, *Scilla*, *Crocus*, *Narcissus* and *Eremurus*.

The flowers of red tulip varieties (fig. 1, 2 and 3) exhibit dark stripes. In white varieties the stripes are transparent and of the same shape. In general infected plants may show stunting and decline (fig. 4). In the hyacinth and other plant species mentioned the leaf symptoms are somewhat similar to those in the tulip (fig. 5, 6 and 7). Moreover hyacinth often shows necrotic spots inside the bulb (fig. 5).

The disease may be confined to patches in the field in which a great proportion of the plants remain stunted and show primary symptoms (fig. 8). A significant proportion of healthy tulips, planted in the field where these observations had been made the previous year, became diseased in the next year.

It appeared that the rate of infection is affected by the depth of planting the bulbs. Lots of tulips planted at dephts of 5 cm, 10 cm, and 22 cm showed 36.2 %, 46.1 % and 95.1 % infection respectively.

Inoculation of White Burley tobacco with sap of the plant species showing symptoms as described above, resulted in the development of symptoms typical for rattle disease. However, not all isolates were capable of moving systemically in tobacco as likewise found by ROZENDAAL & VAN DER WANT (1948) for strains isolated from stem mottle-diseased potatoes.

All attempts to infect healthy tulips by artificial means remained without results. These experiments consisted of rubbing leaves with sap from either rattle-diseased tulip or tobacco, field-planting tulip bulbs in soil to which either intact or mashed leaves of rattle-diseased tobacco had been added, injecting or rubbing virus-containing sap into young tulip sprouts when still inside the bulb and rubbing the rim of the bulb discs from which the roots will emerge.

Antisera were prepared by injecting rabbits with partially purified preparations from leaves of either rattle-diseased tulip or tobacco. They show titers varying between 1/320 and 1/640 against clarified sap of plants carrying the same isolates to which the preparation had taken place. With isolates collected in the field the results were irregular which indicates that virus strains exist with different degrees of serological relationships.

Electron micrographs of preparations made from rattle-diseased tulip, hyacinth and crocus revealed the presence of rod-shaped particles in size and shape similar to those described by VAN DER WANT & ROZENDAAL (1948).

Treating the soil of an infested field by spraying formaldehyde into the plant beds just before planting reduced the amount of infection considerably (table 1). The same effect had been found in a previous year when the treated beds yielded 8.2 % infection against 61.0 % in the untreated beds. Treatment with formaldehyde (3 l per 14 m^2) applied by injection into the soil seven weeks before planting proved to be completely ineffective. Chlorobromopropene similarly applied to a rate of 1.25 l per 14 m^2 seven weeks before planting proved to be fairly effective.

As in the most successful experiment the formaldehyde was sprayed just into the layer of soil in which the bulbs had to be planted immediately afterwards, it is assumed that there may exist a critical period, in which the bulbs are susceptible to infection and that this coincides with the formation of the roots. The ineffectiveness of applying formaldehyde seven weeks before planting means that the infective principle is quickly restored. Yet, once the roots have been formed, no infection occurs during the whole following growing period of the bulbs. The existance of some kind of vector seems probable, the situation having similarity to the one described by MCKINNEY et al. (1957) for the soil-borne viruses

of wheat and oats. This assumption is supported by the failure of provoking infection in tulip by artificial means. However, when infected from the soil the tulip proves to become a natural host plant of the rattle virus. In view of this it is questionable whether it is possible to trace all host plants of this virus using sap inoculations as done by SCHMELZER (1957).

It is possible to establish the presence of rattle virus in the soil. According to NOORDAM (1956) this virus can be isolated from roots of weeds grown on soils where the occurrence of stem mottle or spraing in potato is known. The same proved to be true for roots of *Capsella bursa pastoris*, *Senecio vulgaris* and *Stellaria media*, collected from our experimental field infested with rattle virus. Roots of the just-mentioned weeds obtained from fields where the disease is unknown to occur did not contain this virus.

LITERATUUR

CADMAN, C. H., – 1958. The ring necrosis virus of potato. Proc. 3rd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen, 1957: 168–172.

MCKINNEY, H. H., W. R. PADEN & B. KOEHLER, – 1957. Studies on chemical control and overseasoning of, and natural inoculation with, the soil-borne viruses of wheat and oats. Plant Dis. Rep. 41: 256–266.

NOORDAM, D., – 1956. Waardplanten en toetsplanten van het ratelvirus van de tabak. T. Pl.-ziekten 62: 219–225.

QUANJER, H. M., – 1943. Bijdrage tot de kennis van de in Nederland voorkomende ziekten van tabak en tabaksteelt op kleigrond. T. Pl.ziekten 49: 37–51.

ROZENDAAL, A. & J. P. H. VAN DER WANT, – 1948. Over de identiteit van het ratelvirus van tabak en het stengelbontvirus van de aardappel. T. Pl.ziekten 54: 113–133.

SCHMELZER, K., – 1957. Untersuchungen über den Wirtspflanzenkreis des Tabakmauche-Virus. Phytopath. Z. 30: 281–314.

SLOGTEREN, E. VAN & M. P. DE BRUYN OUBOTER, – 1941. Onderzoekingen over virusziekten in Bloembolgewassen. II. Tulpen. I. Meded. Landbouwhogesch. Wageningen, 45, Verh. 4, 54 pp.

USCHDRAWEIT, H. A. & H. VALENTIN, – 1956. Das Tabakmauche-Virus an Zierpflanzen. Nachr.-Bl. dtsch. Pfl.-Sch.-D. (Braunschweig), 8: 132–133.

WANT, J. P. H. VAN DER & A. ROZENDAAL, – 1948. Electronenmicroscopisch onderzoek van het virus dat de ratelziekte van de tabak en het stengelbont van de aardappel veroorzaakt. T. Pl.ziekten 4: 131–141.

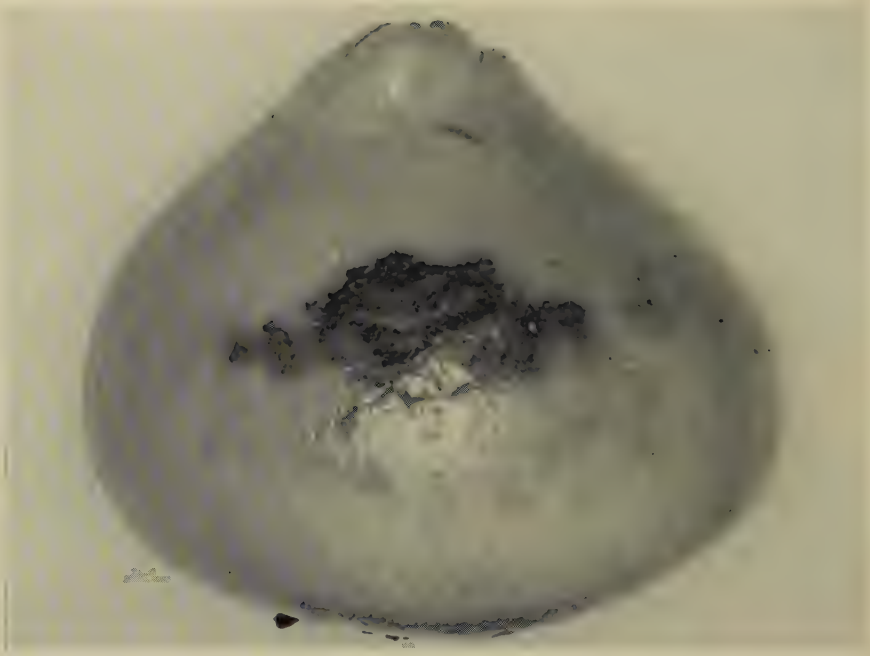


FIG. 1. Ziektebeeld in gevorderd beginstadium. Huid verwijderd (var. Korneforos).
Symptoms in advanced incipient stage. Peeled bulb (var. Korneforos).

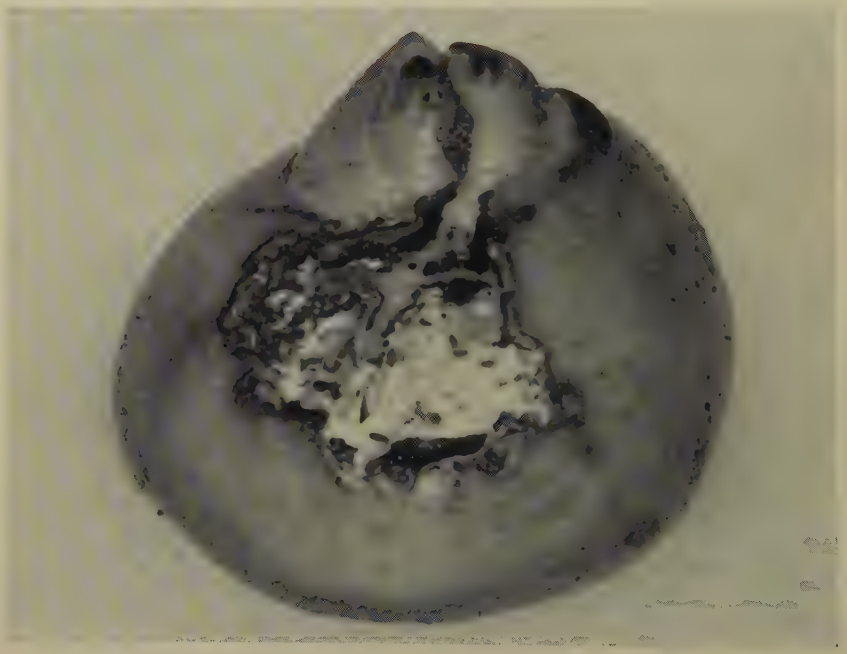


FIG. 2. Ziektebeeld in eindstadium. Huid verwijderd (var. Korneforos).
Symptoms in final stage. Peeled bulb (var. Korneforos).

T. Pl.ziekten 64 (1958): 463–469

HET BLAUW GROEIEN VAN TULPEBOLLEN[1]

With a summary: Blueing of the tulip bulb

DOOR

G. A. KAMERBEEK

Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse

INLEIDING

Het is aantrekkelijker over een ziekte te publiceren, waarvan de oorzaak door onderzoek bekend is geworden, dan over het blauw groeien van tulpen, waarvan tot nu toe de oorzaak nog onbekend is. Richt men zich echter op het einddoel, namelijk het kennen van de ziekte en haar mogelijke bestrijding, dan zal het desalniettemin nuttig zijn enige ervaringen over het onderzoek vast te leggen, temeer waar, met uitzondering van enkele in de vakbladen verschenen ervaringen van kwekers, geen publikatie over deze ziekte is verschenen.

ZIEKTEVERSCHIJNSELEN

De ziekte, die men het blauw groeien van tulpebollen noemt, is allerminst nieuw. Het is bekend dat deze ziekte in bepaalde tulpevariëteiten (cultivars) meer voorkomt dan in andere. Wanneer in de vroege zomer de bollen gerooid worden, vindt men bij de zieke bollen onder de huid (afgestorven buitenste bolrok) bruine plekken op de vrijkomende bolrok. Merkwaardigerwijs komen deze plekken bijna altijd voor aan de meest convexe zijde van de bol. Een tulpebol is immers aan de ene zijde meer gewelfd dan aan de andere. Na het rooien drogen de zieke plekken in en verkalken, zoals men dat noemt. Groenachtige plekjes van een aantasting door *Penicillium* zijn in dit stadium geen uitzondering. Fig. 1 geeft een beeld van bollen waarvan de huid verwijderd is; de ziektesymptomen zijn in een vrij ver ontwikkeld beginstadium. Fig. 2 geeft het eindstadium van de ziektesymptomen weer; duidelijk zijn grote verkalkte delen van de bol te zien. Is de inmiddels volledig afgestorven bruine huid (op de foto's verwijderd) intact, dan bedekt deze de zieke delen en neemt men ter plaatse slechts deuken in de bol waar. Eerst na verwijderen van de huid wordt de aantasting zichtbaar. Zieke bollen worden voor de export afgekeurd. Is de aantasting bijzonder hevig, dan kunnen ook zieke delen dieper in de bol gelegen voorkomen.

Laten wij echter onze aandacht richten op het beeld van de beginsymptomen, want in de gegeven beschrijving is de ziekte al vrij ver voortgeschreden. De eerste symptomen vindt men reeds als de bol nog in een onrijp stadium verkeert. De buitenste bolrok, die later de bruine huid zal vormen en die in dit stadium nog geheel levend is, wordt nimmer aangetast. Merkwaardig is, dat men de ziekteverschijnselen steeds in de daaronder gelegen bolrok aantreft. Daar ontstaan min of meer transparante plekjes, die aanvankelijk kleurloos zijn, doch al spoedig bruin kleuren. Het veld van aantasting wordt groter en de bruine kleur intensiever. Microscopisch neemt men het beeld van necrotische cellen waar. Primair is er geen sprake van aantasting van de epidermis van de bolrok, maar blijken de

[1] Aangenomen voor publikatie 22 augustus 1958.

zieke plekjes duidelijk in het parenchymweefsel van de bolrok te liggen. In een volgend stadium komen de zieke delen – of gedeelten er van – iets ingezonken te liggen. Dan is het stadium bereikt, dat in fig. 1 te zien is.

Men zal zich afvragen waarom gesproken wordt van *blauw* groeien, er zijn immers slechts bruine plekjes. De reden is dat men bij een onrijpe bol de aangetaste plekjes observeert door de buitenste, nimmer aangetaste, levende rok heen. De in wezen bruine plekjes schemeren dan blauwachtig door.

De gegeven beschrijving heeft betrekking op de tulpevariëteit Korneforos, die ook in de hieronder vermelde proeven in hoofdzaak werd gebruikt.

HET OPTREDEN DER ZIEKTE

Aangezien in de praktijk veelal de mening heerst, dat de ziekte eerst optreedt in de laatste ontwikkelingsfase van de bol, is het goed na te gaan wanneer men de ziekte voor het eerst waarneemt. Uit proefrooiïngen van de variëteit Korneforos is gebleken, dat de symptomen in de jaren 1955, 1956, 1957 en 1958 voor het eerst waargenomen zijn op respectievelijk 11, 22, 20 en 16 mei. Deze data moeten als een benadering gezien worden aangezien de proefrooiingen om de 9 à 10 dagen zijn uitgevoerd. De ziekte treedt dus op juist wanneer de bol sterk gaat groeien, d.w.z. de grote groeifase begint. Onder groei is hier verstaan de gewichtstoeneming van de nieuwe bol. Fig. 3 illustreert dit nader. De in de figuur weergegeven groeilijn heeft betrekking op de gewichtstoeneming van dertig nieuwe bollen. De groeilijn heeft het karakter van een S-curve. De zwarte verticale lijnen duiden op het ziektepercentage op het tijdstip, dat in de abscis is weergegeven.

Gaat de groei weer afnemen, dan neemt het ziektepercentage niet meer toe. Er

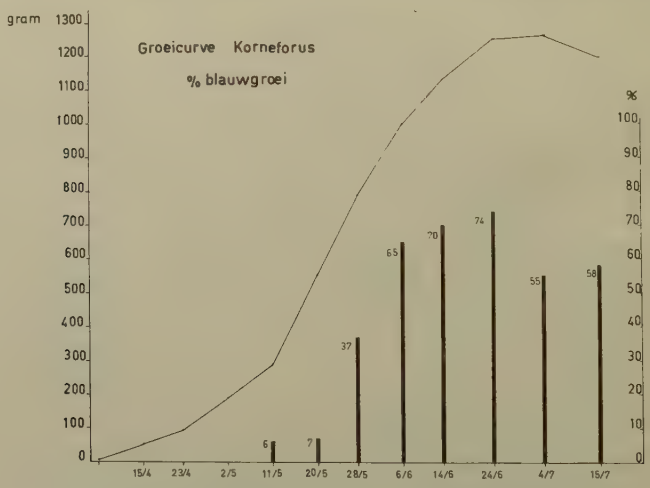


FIG. 3. Groeicurve van nieuwe bol en percentage zieke bollen.
Growth curve for new bulb and percentage diseased bulbs.
Abscis: datum/*date.*
Ordinaat: links, gewicht van 30 nieuwe bollen; rechts, percentage zieke bollen.
left, weight of 30 new bulbs; right, percentage diseased bulbs.

blijkt dus, dat de in de praktijk ontstane naam blauw *groeien* ook wat het tweede lid van dit woord betreft, gelukkig gekozen is. Op het verband van de ziekte met de groei van de bol zal later dieper worden ingegaan.

In het eerste stadium van de ziekte vallen de symptomen minder op, omdat ze aan het oog onttrokken worden door de omhullende bolrok. Dat de ziekte zich speciaal zou ontwikkelen tijdens de laatste rijpingsfase van de bol, is daarom niet juist. Het tegendeel valt eerder waar te nemen. Gedurende de bewaarperiode van de bollen, die op de oogst volgt, blijft de ziekte stationair. Men zou slechts van een teruggang kunnen spreken, voorzover de zieke plekken indrogen.

OORZAAK VAN DE ZIEKTE

Ter beantwoording van de vraag, wat de mogelijke oorzaak van de ziekte zou kunnen zijn, diende allereerst uitgemaakt te worden of er al dan niet sprake is van een infectieziekte. Noch directe microscopische waarnemingen, noch isolaties uit ziek weefsel op diverse voedingsbodems, bevestigden het bestaan van een schimmel- of bacterie-infectie. Voor dit onderzoek zijn bollen gebruikt, die een primair ziektebeeld vertoonden. Het vóór het planten toepassen van bolontsmettingsmiddelen, zoals formaline en kwikontsmetter, bracht geen wijziging in het ziektepercentage. Het feit dat de primair-zieke plekjes binnen de bolrok gelegen zijn, doet ons evenmin aan een schimmel- of bacterie-infectie denken.

Is de kans, dat een schimmel of bacterie als veroorzaker van de ziekte bestaat, zeer klein, de mogelijkheid van een virus als verwekker is hiermede niet uitgesloten. Men vindt evenwel noch aan de bloem, noch aan de bladeren verschijnselen die aan virus doen denken en die met de ziekte in verband gebracht kunnen worden. Het is niet gelukt met het elektronenmicroscoop in preparaten van zieke boldelen beelden te verkrijgen, die op een virus zouden wijzen. Met ziek perssap konden geen virusverschijnselen bij tabaksplanten teweeg worden gebracht, ook niet met behulp van bladluizen. Bij overbrengen van zieke weefselstukjes van een bolrok in bolrokken van gezond uitziende exemplaren, werd evenmin overdracht van de ziekte aan aangrenzende bolrokdelen waargenomen. Ook een voorlopige proef om met ziek perssap een serologische reactie te verkrijgen, leverde een negatieve uitslag op. Toegegeven dat bovengenoemde proeven op bescheiden schaal zijn uitgevoerd, kunnen genoemde negatieve resultaten moeilijk steun geven aan de gedachte, dat een virus de oorzaak van het blauw groeien is.

We mogen uit dit alles concluderen, dat de waarschijnlijkheid van een infectieuze aard der ziekte gering is. In ieder geval zou het dan een infectieziekte moeten zijn met een bijzonder karakter.

Gezien de negatieve resultaten dringt de gedachte zich naar voren, dat de ziekte van fysiologische aard is. Uit de bovengenoemde proeven kan dit echter niet geconcludeerd worden. Een conclusie door uitsluiting van mogelijkheden staat immer zeer zwak. In hoeverre het fysiologische karakter van de ziekte steun vindt in de feiten, zal hieronder besproken worden.

HET FYSIOLOGISCH ASPECT VAN DE ZIEKTE

Verband tussen ziekte en groei van de nieuwe bol

Reeds eerder werd gewezen op het verband van de ziekte met de groei van de bol (fig. 3). Dit verband laat zich op nog andere wijze demonstreren. In de veld-

proeven, die genomen zijn, werden steeds groepjes van 400 bollen van eenzelfde bolmaat uitgeplant. Meestal werd hiervoor de variëteit Korneforos gebruikt en wel met een bolomtrek van 10 cm. Het ziektepercentage van het plantgoed was steeds zeer gering of zelfs nihil. Tijdens de cultuur groeiden niet alle nieuwe bollen in gelijke mate en oogstte men dientengevolge steeds een aantal nieuwe bollen van ongelijk gewicht. Groepeert men de hoofdbollen in gewichtsklassen, dan ontstaat een curve, die de vorm heeft van een normaal verdelingsdiagram, zoals in fig. 4 is weergegeven. De top ligt in dit geval bij de gewichtsgroep van 35 tot 39 g.

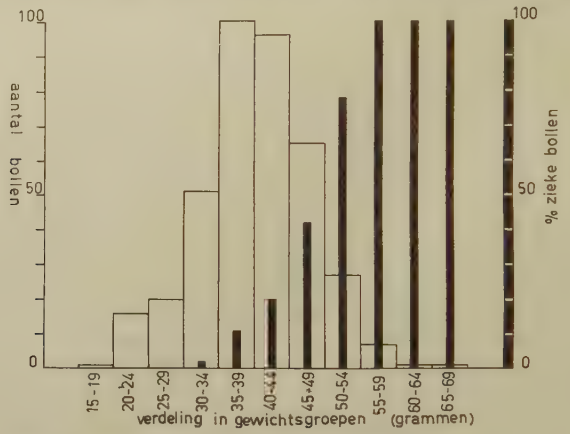


FIG. 4. Relatie tussen bolgewicht en ziektepercentage.
Relation between weight of bulb and percentage diseased bulbs.
Abscis: gewichtsgroepen/*ranges of weight*
Ordinaat: links, aantal bollen; rechts, percentage zieke bollen
left, number of bulbs; right, percentage diseased bulbs

Door in dezelfde figuren het ziektepercentage in elke groep als verticale zwarte kolommen aan te geven, blijkt dat dit niet willekeurig of gelijk over de gewichtsgroepen is verdeeld, doch toegenomen is met het bolgewicht (dus ook met de bolmaat). Dit leidt tot de conclusie, dat naarmate de nieuwe bol meer gegroeid is, ook het ziektepercentage sterk is gestegen. Bij de tientallen uitgevoerde analyses is geen uitzondering waargenomen (Korneforos, Albino en Grand Duc).

De consequentie van deze correlatie tussen de bolgrootte en het ziektepercentage is, dat het niet juist is de proefuitkomsten te baseren op het totale percentage zieke bollen van een geoogste partij, doch dat men slechts ziektepercentages van bepaalde gewichtsgroepen mag vergelijken, wil men de factor groei elimineren. Bestudeert men bijvoorbeeld de invloed van de bemesting op het ziektepercentage, dan zal doordat een stikstofbemesting het bolgewicht in positieve zin beïnvloedt, het ziektepercentage van de gehele groep zijn toegenomen. Men mag hieruit nog niet besluiten, dat een stikstofbemesting een specifieke invloed op de ziekte heeft. Beschadigt men – zoals in de proeven is voorgekomen – het blad door bespuiting met een oplossing van sporenelementen, dan vindt men als totaalcijfer een lager ziektepercentage ten opzichte van de controle, niet als gevolg van het verband tussen de ziekte en het gebrek aan bepaalde sporenelementen, doch door mindere groei der bollen ten gevolge van beschadiging van

het blad. Daarom werd in de proeven elke partij bollen geanalyseerd op de wijze die in fig. 4 is weergegeven. Men verkrijgt aldus een beeld in hoeverre de factor de ziekte beïnvloedt, via de groei, of op een meer directe wijze.

Invloed van bemesting en grondsoort

Aangezien, volgens meningen uit de praktijk, de mogelijkheid aanwezig leek, dat de ziekte een gevolg zou zijn van een overbemesting, is in oriënterende proeven de invloed van de bemesting nagegaan.

Een normale bemesting voor het tulpegewas betekent, dat in het najaar 1 kg A.S.F. (6.18.28) per vierkante roede naast enige stalmest en in het voorjaar tweemaal 300 g kalkammonsalpeter wordt gegeven. (Een vierkante roede is 14,2 m².) Tabel 1 geeft een overzicht van het effect van dergelijke bemesting. Bij de variëteit Korneforos is het resultaat, dat door het weglaten van de bemesting in de meeste gevallen enige verbetering valt te bespeuren. De rooigewichten, als ook de hier niet weergegeven analyses naar de gewichtsgroepen en het ziektepercentage, wijzen in dit geval op een verminderde groei van de nieuwe bol. Deze ver-

TABEL 1. Invloed van bemesting en grondsoort op ziektepercentage.
Influence of manuring and soil type on percentage diseased bulbs.

Variëteit *Variety*	Grondsoort *Type of soil*	Bemesting *Manuring*	Seizoen *Season*	Aantal geplante bollen *Number of planted bulbs*	Plantgewicht in kg *Planing weight*	Rooigewicht in kg *Lifting weight*	Percentage zieke bollen *Percentage diseased bulbs*
Korneforos	zand *sand*	bemest *manured*	54/55	400	7,5	20,5	37
	zand *sand*	onbemest *unmanured*	54/55	400	7,5	18,5	22
	klei *clay*	bemest	54/55	400	–	14,4	0,5
	zand	bemest	55/56	400	5,4	19,4	62
	zand	onbemest	55/56	400	5,3	16,6	61
	klei	bemest	55/56	400	5,4	14,9	52
	klei	onbemest	55/56	400	5,4	14,0	39
	veen/*peat*	bemest	55/56	400	–	21,6	61
	veen	onbemest	55/56	400	–	19,1	58
	zand	bemest	56/57	399	6,1	13,2	59
	zand	bemest	56/57	398	6,3	15,6	56
	zand	onbemest	56/57	397	6,2	9,4	49
Golden Harvest	zand	bemest	56/57	400	6,9	20,8	16
	zand	onbemest	56/57	398	7,2	12,1	12
Grand Duc	zand	bemest	55/56	400	10,4	23,4	8
	zand	bemest	55/56	100	–	–	12
	zand	onbemest	55/56	400	10,4	22,4	19
	klei	bemest	55/56	400	10,6	16,8	0,2
Albino	zand	bemest	54/55	400	–	26,0	11
	zand	onbemest	54/55	400	–	22,7	26
	klei	bemest	54/55	400	–	20,1	5

beteringen konden toegeschreven worden aan het feit, dat de bollen minder sterk gegroeid waren en duidden zeker niet op een direct verband tussen de ziekte en de gegeven bemesting. Ook bij de variëteit Golden Harvest is deze conclusie mogelijk. Men dient deze conclusie echter met enig voorbehoud te zien, daar de enkele gegevens bij de variëteiten Grand Duc en Albino dit resultaat niet onderschrijven. Uit de waarnemingen, ook de niet vermelde, bleek evenwel, dat er dikwijls een grote spreiding kan optreden in de ziektepercentages, zodat men wel moet aannemen dat er op de ziekte andere factoren van invloed waren, die tot nu toe aan de waarneming waren ontsnapt.

In tabel 1 zijn tevens enige gegevens samengevat over de invloed van de grondsoort waarop men de bollen kweekt. Bij de variëteiten Korneforos, Grand Duc en Albino trad een aanzienlijke verbetering op, wanneer de cultuur op kleigrond plaats vond. Ook deze verbetering is, zoals eerder werd uiteengezet, te verklaren door aan te nemen, dat de groei van de bol geringer was dan normaal. Op de veengrond was bij Korneforos het ziektepercentage ongeveer gelijk aan dat op zandgrond, evenals waarschijnlijk de groei van de bol.

Een extra toediening van fosfor, kalium en calcium bracht bij de variëteit Korneforos geen verandering van het ziektepercentage teweeg.

Invloed van sporenelementen

De mogelijkheid bestaat, dat de ziekte het gevolg is van het ontbreken van een der sporenelementen. Er zijn tamelijk uitgebreide proeven (in drievoud) genomen bij de variëteit Korneforos en Topscore teneinde de elementen B, Co, Cu, Mg, Mo, Mn en Zn te toetsen op hun mogelijke effect. De sporenelementen zijn zowel via bespuitingen van de planten als in grondbemesting toegediend, zowel afzonderlijk als in mengsels. Met het oog op de ruimte zullen de getallen over deze proeven achterwege blijven en zal volstaan worden met de mededeling, dat de uitkomsten geen conclusie toelieten, omdat er vrijwel geen verschillen in ziektepercentages door de behandelingen optraden. Deze uitkomst, gecombineerd met het reeds eerder vermelde feit, dat de ziekte zowel op de kleibodem, zandbodem als veenbodem voorkomt (waarbij bovendien elk najaar enige stalmest door de bodem gewerkt wordt), maken het zeer onwaarschijnlijk, dat het blauw groeien een gebreksziekte is.

Het vroegtijdig verwijderen van het onderste blad van de plant heeft ten gevolge dat het ziektepercentage daalt. Tegelijkertijd daalt echter het oogstgewicht (tabel 2). Men dient deze maatregel echter wel vroeg tijdens de ontwikkeling van de nieuwe bol te nemen, zoals blijkt uit een vergelijking van de data en ziektepercentages in tabel 2 met de groeicurve van de bol in fig. 3. Ook het vroegtijdig afschoffelen van de planten – ongeveer vijf weken voor de normale oogstdatum – drukt het ziektepercentage. Beide feiten kunnen weer verklaard worden door de verminderde groei van de bol, een verschijnsel dat juist tegenstrijdig is aan het in de cultures gestelde doel, namelijk de opbrengst zo veel mogelijk op te voeren.

ALGEMENE BESPREKING

Wil men, gezien de verrichte proeven, waarvan slechts een gedeelte hier is vermeld, een concept hebben, waarin men de factoren die de ziekte beïnvloeden samenvat, dan moet men de groei – in dit geval de gewichtstoeneming van de bol

TABEL 2. Effect van wegsnijden van het onderste blad op het ziektepercentage.
Effect of cutting away the lower leaf.

Datum verwijdering *Date of cutting*	Aantal geplante bollen *Number of planted bulbs*	Plantgewicht in kg *Planting weight*	Rooigewicht in kg *Lifting weight*	Ziektepercentage *Percentage diseased bulbs*
21/3	400	6,8	14,4	4
3/4	400	6,7	12,7	1
3/4	400	6,7	12,9	1
17/4	400	6,8	12,8	1
4/5	400	6,9	15,2	11
17/5	400	6,9	16,1	15
3/6	400	6,8	17,0	14
Controles/*Controls*	400	7,0	16,6	5
	400	6,7	15,9	16
	400	6,8	16,6	14

– centraal stellen. De factoren, die de groei vertragen, zullen eveneens het ziektepercentage verlagen, terwijl ook het omgekeerde waarschijnlijk juist is. De factoren, die tot nu toe onderzocht zijn, passen althans in deze weg van oorzaak en gevolg. Men zou graag een factor vinden, die aan dit verband ontsnapt, d.w.z. de groei ongehinderd laat en toch de ziekte vermindert, maar deze is nog niet gevonden.

Vraagt men zich af of de verkregen gegevens wijzen op het fysiologisch karakter van de ziekte of op de mogelijkheid, dat een virus de oorzaak is, dan is hier geen afdoend antwoord mogelijk. Beide zouden immers zeer wel met een groeiactiviteit in verband gebracht kunnen worden. Voorlopig is het het meest waarschijnlijk, dat de ziekte een fysiologisch karakter draagt.

SUMMARY

With some tulip varieties brown necrotic spots appear in the bulb scales during the development of the new bulb. These spots are never noticed in the outer living scale, which afterwards becomes the dead skin of the bulb, but always in the underlying scale. In practice this phenomenon is called the blueing of the tulip bulb, because one notices these spots when looking through the outer living scale. The first symptoms appear about the time when the new bulb enters its period of maximum development.

Considering the results of experiments to date, it seems unlikely that a fungus or bacterium is responsible for the disease. Nor has it been possible to demonstrate a virus, so the disease would appear to be of a physiological nature.

There is an apparent correlation between growth (increase of weight) and the disease. Factors which diminish the growth also reduce the percentage of the disease in the bulbs. The influence of manuring can probably be explained in this way.

Application of B, Co, Cu, Mg, Mn, Mo and Zn salts has no influence upon the disease, so there would appear to be no likelihood of the disease being a deficiency disease.

The real nature of the disease is still unknown.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 70–474

ONDERZOEKINGEN OVER DE ZUIVERING VAN *CUCUMIS VIRUS 1 ST. CHR.* UIT TABAK[1]

With a summary:
Studies on the purification of Cucumis virus 1 st. Chr. *from tobacco*

DOOR

J. A. VAN DER VEKEN
Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse

INLEIDING

Bij het zuiveren van *Cucumis virus 1* worden vaak sterk wisselende resultaten verkregen. Sommige onderzoekers menen dat de verschillen te wijten zijn aan adsorptie aan celbestanddelen of aggregatie van het virus (SILL, BURGER, STAHMANN & WALKER, 1952; NOORDAM, 1952). In verband met een onderzoek naar de biochemische eigenschappen van enkele virussen, die tot het *Cucumis virus 1* gerekend worden, werd de zuivering van een door NOORDAM uit *Chrysanthemum indicum* geïsoleerde stam van *Cucumis virus 1* nader bestudeerd.

METHODEN

Alle onderzoekingen werden uitgevoerd met *Nicotiana tabacum*, die een goede waardplant is voor *Cucumis virus 1 st. Chr.* Jonge planten werden geïnfecteerd met dit virus, dat indertijd door NOORDAM aan ons laboratorium ter beschikking was gesteld. Na het duidelijk zichtbaar worden van de symptomen werden de bladeren geoogst en, nadat de nerven waren verwijderd, gemalen met twee gewichtsdelen van één der bufferoplossingen, vermeld in tabel 1, respectievelijk 0,8 % NaCl-oplossing. Deze suspensie werd nu verder gezuiverd volgens schema 1.

De hoeveelheid virus in verschillende fracties werd serologisch bepaald volgens de microprecipitatiemethode (VAN SLOGTEREN, 1955a), met een door VAN SLOGTEREN (1955b) bereid antiserum.

Agarelektroforese werd uitgevoerd volgens de methode van CLEVE & SCHWICK (1957).

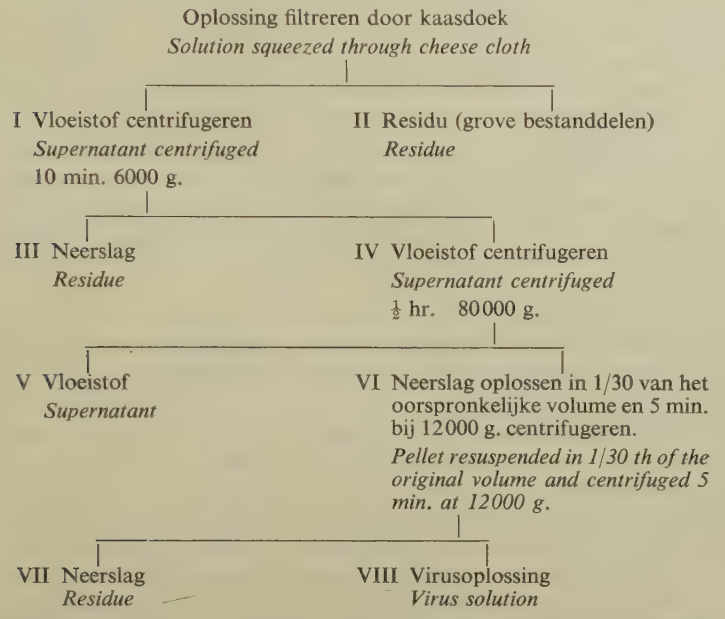
RESULTATEN

1. Invloed van enkele factoren op de virusopbrengst

Om de invloed van verschillende zouten op de virusopbrengst na te gaan werd een aantal bladeren van geïnfecteerde planten gehalveerd. De ene helft werd met 0,8 % NaCl, de andere helft met een bufferoplossing gemalen, waarna beide oplossingen volgens schema 1 werden gezuiverd. De verschillen in opbrengst bij gebruik van een aantal bufferoplossingen zijn niet groot. Met 0,8 % NaCl schijnt de opbrengst iets lager te zijn dan bij extractie met bufferoplossing pH 7,0 (tabel 1). Toevoegen van verschillende stoffen zoals KCN, $NaHSO_3$

[1] Aangenomen voor publikatie 3 september 1958.

SCHEMA 1. Zuivering van *Cucumis virus 1 st. Chr.* door centrifugeren.
Purification of Cucumis virus 1 st. Chr. *by centrifugation.*



TABEL 1. Invloed van verschillende zoutoplossingen op de virusconcentratie in fractie VIII. Zie ook schema 1.
Effect of different salt solutions on the virus concentration in fraction VIII. See also scheme 1.

Oplosmiddel *Solvent*	Titer van de virusoplossing *Dilution end-point of virus*		
	Proef 1 *Exper. 1*	Proef 2 *Exper. 2*	Proef 3 *Exper. 3*
Fosfaatbuffer, 0,1 Mol., pH 7,0	1/32	1/128	1/32
Fosfaatbuffer, 0,1 Mol., pH 7,0+0,02 Mol. Verseen	1/32	1/128	
Maleaatbuffer, 0,1 Mol., pH 7,0	1/32	1/128	1/32
Citraatbuffer 0,1 Mol., pH 6,0	1/32	1/ 64	1/32
0,8% Natriumchloride	1/16	1/ 64	1/32

en Verseen, een complexbindend reagens, heeft geen invloed op de virusconcentratie in fractie VIII. Bij deze proeven hebben wij ons meestal beperkt tot het bepalen van het virus langs serologische weg. Uit infectieproeven bleek dat de oplossingen infectievermogen bezaten, maar dit ging vrij snel verloren.

Uit oudere bladeren kan volgens de toegepaste zuiveringsmethode weinig virus worden geïsoleerd.

Het leek gewenst na te gaan in welke andere fracties dan fractie VIII virus terechtkomt bij deze methode van zuivering. Daartoe werden alle fracties van

een zuivering met 0,8 % NaCl nog eens geëxtraheerd met fosfaatbuffer. Hierbij bleek, dat vooral in fractie VII een belangrijke hoeveelheid virus voorkomt. Dit virus was niet extraheerbaar met 0,8 % NaCl.

Het grote bezwaar van gebruik van de fosfaatbuffer is, dat naast virus ook een grote hoeveelheid chromoproteïne geëxtraheerd wordt. Later bleek een groot gedeelte van het virus uit fractie VII in oplossing te gaan bij incubatie in citraatbuffer pH 6,0.

Uit andere proeven is ons gebleken, dat grote hoeveelheden virus verloren kunnen gaan bij bevriezen van de ruwe bladextracten of bij precipitatie van het virus met 30 % ammoniumsulfaat. Meestal wordt in zulke gevallen het virus aangetroffen in de fracties welke tijdens centrifugeren bij laag toerental neerslaan. Het kan hieruit vrijgemaakt worden door incuberen in citraatbuffer pH 6,0.

2. Enkele eigenschappen van de gezuiverde virussuspensies

Reeds bij bewaren in de ijskast ontstaat na enkele dagen een neerslag, zonder dat daarbij enige vermindering van de serologische activiteit valt waar te nemen. Vooral in 0,8 % NaCl en citraatbuffer pH 6,0 treedt dit verschijnsel snel op. Ook bij bevriezen ontstaat een dergelijk neerslag, waarbij soms een geringe hoeveelheid virus verloren gaat. In dit geval was het mogelijk door toevoegen van 10 % glycerol de vorming van een precipitaat te voorkomen.

Deze verschijnselen waren aanleiding tot een onderzoek naar het aantal hoogmoleculaire componenten in deze suspensies. Daaruit bleek een groot verschil tussen het suspenderen in citraatbuffer pH 6,0 en 0,8 % NaCl enerzijds en dat in de andere buffermedia anderzijds. Treffen we in laatstgenoemde milieus steeds twee componenten aan, met sedimentatieconstanten 18 S en 88 S, in de beide eerstgenoemde oplosmiddelen komt meestal alleen de component met sedimentatie-constante 88 S voor. Ondanks de homogeniteit van de verbinding 88 S in de ultracentrifuge, moeten we uit de voorgaande resultaten besluiten, dat in deze preparaten nog meer componenten voorkomen. Resultaten van de agarelektroforese bevestigen deze conclusie. Om de bijmengsels te verwijderen werden de viruspreparaten 10 uur bij 35 °C in citraatbuffer pH 6,0 geïncubeerd, waarna het ontstane neerslag werd afgecentrifugeerd. De serologische activiteit vermindert hierbij in geringe mate, maar het infectievermogen gaat geheel verloren. Met de agarimmuno-elektroforese vinden we geen verschil in de antigeencomponent voor en na de incubatie. Wel schijnt het virus na de incubatie gemakkelijker te aggregeren. Na precipitatie met de ultracentrifuge is het virus, vermoedelijk tengevolge van deze eigenschap, moeilijk weer in oplossing te brengen.

Een zeer merkwaardig feit is het virusverlies dat optreedt bij dialyse van de virussuspensie in 0,8 % NaCl tegen water. Zo was in een experiment de precipitatie-titer van het virus vóór dialyse 1/32, terwijl na dialyse geen virus meer aangetoond kon worden. In overeenstemming hiermee treffen we in de elektronenmicroscopische opnamen slechts enkele bolvormige virusdeeltjes aan met een diameter van 50 tot 100 mμ. In overeenkomstige geïncubeerde preparaten treffen we veel meer van deze deeltjes aan.

Uit de resultaten van ons onderzoek kan worden besloten dat *Cucumis virus 1 st. Chr.* uit tabak gedeeltelijk gezuiverd kan worden door het virus te extraheren met zoutoplossingen, te centrifugeren en vervolgens de normale nucleoproteïnen te verwijderen door de preparaten in citraatbuffer te incuberen. Het infectievermogen blijkt, helaas, niet behouden te zijn gebleven. Hoewel de hoeveelheid virus, die geïsoleerd kan worden bij extractie met bufferoplossingen van pH 7,0 iets hoger is dan met 0,8 % NaCl, verdient het gebruik van laatstgenoemde oplossing, evenals dat van citraatbuffer pH 6,0 toch de voorkeur, daar hiermee niet de normale eiwitcomponent met sedimentatieconstante 18 S geëxtraheerd wordt (Eggman, Singer & Wildman, 1953).

Niettegenstaande de extractie met zoutoplossing gaat toch een aanmerkelijke hoeveelheid virus verloren in de fracties, die reeds bij centrifugeren met laag toerental neerslaan. Vaak worden de chloroplasten beschouwd als de bestanddelen welke het virus binden (Sill, Burger, Stahmann & Walker, 1952). Gezien de sterke binding tussen virus en de normale nucleoproteïnen uit de microsoomfractie, welke bleek uit de agarelektroforese en de sedimentatiebepalingen, achten wij het niet uitgesloten, dat ook deze verbindingen een belangrijke rol spelen bij de virusverliezen. In alle gevallen waarin de oplosbaarheid van deze normale nucleoproteïnen verandert, o.a. bij bevriezen van ruw sap of bij precipitatie met ammoniumsulfaat, gaat ook vaak virus verloren. Hiermee is natuurlijk niet te verklaren, dat hierbij nogal wisselende resultaten verkregen worden.

Door incubatie in citraatmilieu worden de normale nucleoproteïnen afgebroken, waarbij het virus, althans voor zover het de fysisch-chemische eigenschappen betreft, geen verandering ondergaat; vermeld is reeds, dat het infectievermogen verloren gaat, wat bij tabaksmozaïekvirus niet het geval is (Pirie, 1950, 1956).

De virusverliezen, die optreden bij dialyse van de niet geïncubeerde viruspreparaten in 0,8 % NaCl tegen water, zijn van groot belang voor het elektronenmicroscopisch onderzoek. Waarschijnlijk slaat het virus neer met de normale nucleoproteïnen die onoplosbaar zijn in zoutvrij milieu. De vorm en de grootte der virusdeeltjes komt overeen met die, beschreven door de Bruyn Ouboter, Beijer & van Slogteren (1952) en Noordam (1952).

SUMMARY

Purification of *Cucumis virus 1 st. Chr.* by precipitation with ammonium sulphate sometimes gives poor results (Noordam, 1952). In these cases the virus is lost in fractions precipitated at low centrifugation speed. It is believed that adsorption of the virus to cell constituents or aggregation is the cause of these losses. The same phenomenon was observed with *Cucumis virus 1* (Sill, Burger, Stahmann & Walker, 1952).

It was possible partly to purify the virus from *Nicotiana tabacum* var. White Burley by extraction with 0,8 % NaCl, ultracentrifugation and removal of the normal nucleoproteins by incubation in citrate buffer pH 6.0 (scheme 1). During incubation the infectivity was lost.

The total amount of virus extracted if the buffer solution was pH 7.0 seemed

somewhat higher, but a large amount of chromoproteins and a normal nucleoprotein with sedimentation constant 18 S are extracted as well (EGGMAN, SINGER & WILDMAN, 1953). So for purification 0.8 % NaCl or citrate buffer pH 6.0 were used.

The virus, purified by centrifugation, contained material that can be removed by incubation in citrate buffer pH 6.0, without affecting the virus content measured by the microprecipitation test (VAN SLOGTEREN, 1955a). These substances resembled the normal nucleoproteins from the microsome fraction (PIRIE 1950, 1956). The agar electrophoresis and the ultracentrifugation studies indicate that in vitro the virus is firmly bound to the normal nucleoproteins. So it seems possible that changes in the solubility of the nucleoproteins cause loss of virus. This is confirmed by the loss of virus from an unincubated virus solution during dialysis against water.

In the virus preparations we found particles 50–100 mμ diam. as described by DE BRUYN OUBOTER, BEYER & VAN SLOGTEREN (1952) en NOORDAM (1952).

LITERATUUR

BRUYN OUBOTER, M. P. DE, J. J. BEIJER & E. VAN SLOGTEREN, – 1952. Diagnosis of plant diseases by electron microscopy. Ant. v. Leeuwenhoek 17: 189–208.

CLEVE, H. & G. SCHWICK, – 1957. Immuno-elektrophoretische Serumanalyse bei Makroglobulinaemie Waldenstrom. Z. Naturforsch. 12b: 375–384.

EGGMAN, L., S. J. SINGER & S. G. WILDMAN, – 1953. The proteins of green leaves. J. biol. Chem. 203: 969–983.

NOORDAM, D., – 1952. Virusziekten bij chrysanten in Nederland. T. Pl.ziekten 58: 121–189.

PIRIE, N. W., – 1950. The isolation from normal tobacco leaves of nucleoprotein with some similarity to plant viruses. Biochem. J. 63: 316–325.

PIRIE, N. W., – 1956. Some components of tobacco mosaic virus preparations made in different ways. Biochem. J. 63: 316–325.

SILL, W. H., W. C. BURGER, M. A. STAHMANN & J. C. WALKER – 1952. Electron microscopy of Cucumber virus 1. Phytopath. 42: 420–422.

SLOGTEREN, D. H. M., VAN – 1955a. Serological microreactions with plant viruses under paraffin oil. Proc. 2nd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse–Wageningen, 1954: 51–54.

SLOGTEREN, D. H. M., VAN – 1955b. Serological analysis of some plant viruses with the gel diffusion method. Proc. 2nd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen, 1954: 45–50.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 475–478

DE INFECTIECYCLUS VAN *UROCYSTIS GLADIOLICOLA* OP GLADIOLEN[1]

With a summary: The infection cycle of Urocystis gladiolicola *on gladiolus*

DOOR

P. K. SCHENK

Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse

INLEIDING

In veel publikaties van vóór 1942 is sprake van het voorkomen van een brandziekte bij gladiolen (MOORE, 1939). Uit het onderzoek van DODGE & LASKARIS (1941 a, 1941 b) en van HOTSON (1942 a, 1942 b) is gebleken, dat hier in veel gevallen een misverstand in het spel is geweest, waarbij men enkele *Papulaspora* spec., welke secundair optreden na aantasting door sommige gladioleziekten, ten onrechte voor *Urocystis* heeft aangezien. AINSWORTH (1949) heeft vervolgens de veroorzaker van de brandziekte beschreven onder de naam *Urocystis gladiolicola*. Mede in verband met de vroeger heersende verwarring, zijn in de literatuur geen betrouwbare gegevens gevonden over de infectie en het verloop van de ziekte.

Het resultaat van infectieproeven met natuurlijk en kunstmatig besmet plantmateriaal en proeven in door brandsporen besmette grond, heeft het mogelijk gemaakt een beeld te vormen van de infectiecyclus van deze ziekte. In het onderstaande wordt dit gedaan aan de hand van gegevens verzameld door macroscopische en microscopische waarnemingen in een partij gladiolen van het ras Van Tienhoven.

MATERIAAL EN METHODE

In de zomer van 1956 is beslag gelegd op een partij gladiolen Van Tienhoven, waarin 17,6 % van het aantal planten door brand was aangetast. In de loop van het groeiseizoen zijn de aangetaste planten afgestorven en weggerot, waarbij de sporen uit de sori in blad en knol zijn vrijgekomen en zich hebben verspreid in de omringende grond en tevens de naburige, niet aangetaste planten hebben besmet. Bij het bestuderen van de verdere lotgevallen van deze partij zijn de geoogste knollen en kralen (bulbillen, gevormd aan korte stolonen onder de jonge knol, die worden gebruikt voor de vegetatieve vermeerdering) van elkaar gescheiden.

De volgende methoden van onderzoek zijn hier toegepast:

a. Macroscopisch onderzoek. De geoogste knollen worden nauwkeurig onderzocht op de aanwezigheid van brandsori in de knolschubben en/of het knolvlees (LIMBER, 1948, 1952). In het laatste geval zijn de sori dikwijls zeer klein en de knollen worden daarom op diverse plaatsen doorgesneden.

b. Microscopisch onderzoek van knolschubben waarin geen sori zijn gevonden, op de aanwezigheid van brandsporen. De knolschubben van één knol of van vijf tot tien kralen worden heftig met wat water geschud, de vloeistof wordt

[1] Aangenomen voor publikatie 22 augustus 1958.

afgeschonken en gecentrifugeerd. In het bezinksel wordt gezocht naar brandsporen.

c. Microscopisch onderzoek naar de aanwezigheid van mycelium in knollen waarin al of niet sori zijn aangetroffen. Een knol wordt daartoe radiaal doorgesneden, midden door de centrale cilinder en door de okselknoppen. Deze laatste liggen in één vlak als gevolg van de afwisselende bladstand van de op de stengelknol ingeplante schedebladen en bladscheden van de bovengrondse bladeren. Vervolgens wordt met behulp van een scheermes in houder een plakje van ongeveer 0,5 mm dikte van het snijvlak afgeschaafd. Dit wordt 5 tot 24 uur gefixeerd in alcohol 95 %, daarna enkele minuten opgekookt in een oplossing van chloraalhydraat (8 g in 5 cc aq. dest.) en tenslotte 4 tot 5 min. opgekookt in lactophenol met 0,05 % katoenblauw. De plakken worden op grote objectglazen gebracht en bekeken onder een vergroting van 50 tot 80 maal. Met enige ervaring is in het knolweefsel het sterk blauw gekleurde, intercellulaire mycelium van de parasiet gemakkelijk te herkennen aan de talrijke, grote, spiraalvormige haustoriën. In het vervolg wordt deze methode aangeduid met de letters S.M. (Standaardmethode).

RESULTATEN EN BESPREKING

Het resultaat van deze studie is samengevat in tabel 1, waarin de waarnemingen van drie jaren zijn verenigd. De knollen en kralen zijn beide in het voorjaar van 1957 in verschillende partijtjes gesplitst, die niet steeds naast elkaar zijn opgeplant. De vermelde cijfers zijn de totalen van de in de afzonderlijke groepen verkregen uitkomsten.

TABEL 1. Samenvatting van de macroscopische en microscopische waarnemingen in de partij gladiolen Van Tienhoven in de jaren 1956, 1957 en 1958 (in procenten, met tussen haakjes het totaal aantal gevallen waarop dit percentage betrekking heeft).

Summary of macroscopical and microscopical observations on gladiolus Van Tienhoven corms and cormels in the years 1956, 1957 and 1958 (in percentages, with the numbers on which these are based in brackets).

Zieke planten, zomer 1956 *Diseased plants, summer 1956*		Winter '56 op '57 Tijdens bewaring *Winter '56–'57 In storage*			Zieke planten, zomer 1957 *Diseased plants, summer 1957*	Winter '57 op '58 Tijdens bewaring *Winter '57–'58 In storage*			Zomer 1958. Zieke planten uit kn. zonder sori *Summer 1958. Diseased plants from corms without sori*
		Macroscop.	Microscop.			Macroscop.	Microscop. (S.M.)		
		sori in knolvlees *sori in cornflesh*	mycel. in knolvl.(S.M.) *mycel. in cornflesh*	brandsp. op schubben *smutspores on scales*		sori in knolschubben *sori in cornscales*	mycel. in kn. met sori *mycel. in corms with sori*	mycel. in kn. zonder sori *mycel. in corms without sori*	
17,6 (3542)	knollen *corms*	0,4 (500)	1,3 (160)	100 (20)	2,0 (1190)	0 (1538)		13,3 (300)	9,2 (838)
	kralen *cormels*	0 (600)	?	100 (5)	0,4 (3546)	9,8 (1912)	97,0 (99)	14,2 (670)	14,3 (217)

Opvallend is dat na de zware aantasting in de zomer van 1956 in de geoogste knollen daarvan zo weinig is terug te vinden. Sori in de schubben zijn niet waargenomen, terwijl in slechts 0,4 % van de knollen sori in het vlees zijn aangetroffen. Bij microscopisch onderzoek (S.M.) blijkt 1,3 % van de knollen mycelium te bevatten. Alle knollen blijken echter besmet te zijn met brandsporen die afkom-

stig zijn van de zieke planten die in het voorafgaande seizoen tussen de gezonde hebben gestaan.

De 2 % zieke planten in de zomer van 1957 moeten gegroeid zijn uit knollen die in de voorafgaande winter reeds mycelium bevatten. Deze zieke planten zijn verwijderd, waarna te velde verder geen symptomen van de ziekte of secundaire verschijnselen, zoals verminderde groei, zijn waargenomen. Na het rooien, in de winter van '57 op '58 blijkt bij microscopisch onderzoek (S.M.) echter 10,3 % van de knollen mycelium van de brandschimmel te bevatten. Deze knollen zijn geïnfecteerd door sporen die een jaar eerder op de moederknol aanwezig waren. De beide conclusies worden bevestigd door de waarneming dat in partijtjes die in het voorjaar van 1957 vóór het planten zijn ontsmet met een organisch kwikpreparaat, in de zomer wel de zieke planten zijn gevonden, terwijl in de winter van '57 op '58 daarin geen nieuwe infecties zijn geconstateerd.

Bij de kralen is de gang van zaken analoog aan die bij de knollen. Deze zijn in de winter van '56 op '57 niet op de aanwezigheid van mycelium onderzocht. De oude knolletjes van de aangetaste planten blijken echter in de zomer van 1957 geheel met mycelium doorwoekerd te zijn, zodat verondersteld mag worden dat ook hier de schimmel al aanwezig was tijdens de voorafgaande bewaring. De nieuwe infecties zijn afkomstig van de aanhangende sporen en hebben aanleiding gegeven tot het optreden van macroscopische symptomen in 9,8 % van de geoogste knollen. Microscopisch (S.M.) is in 97,0 % van dergelijke knollen mycelium gevonden, terwijl in 14,2 % van de knolletjes zonder sori mycelium is aangetoond.

Een deel van het in 1957 geoogste materiaal, afkomstig zowel van kralen als knollen, is in 1958 weer uitgeplant, gedeeltelijk buiten, gedeeltelijk in een kas. Uit de totale aantallen zieke planten blijkt dat een goede overeenstemming bestaat tussen het volgens de S.M. bepaalde percentage geïnfecteerde knollen en het aantal zieke planten dat daaruit groeit.

Uit andere, hier niet nader besproken proeven is gebleken dat infectie ook kan plaats vinden in door brandsporen besmette grond. De sporen kunnen daarin minstens een jaar hun vitaliteit behouden.

De geschetste infectiecyclus geldt voor de grootbloemige gladiolerassen, waarvan er overigens maar een gering aantal vatbaar is. Bij de zeer vatbare *Gladiolus nanus* rassen, met een geheel andere groeiwijze en andere cultuuromstandigheden, gaat deze cyclus waarschijnlijk in grote lijnen ook op. Er zijn echter bepaalde aanwijzingen dat hier de ziekte zich ook langs andere wegen in een partij in stand kan houden.

Bestrijdingsproeven door middel van warmwaterbehandelingen en ontsmetting van het plantmateriaal zijn opgezet en de eerste resultaten zijn zeer gunstig.

SAMENVATTING

1. De infectie van grootbloemige gladiolerassen door *Urocystis gladiolicola* (Ainsw.) kan ontstaan doordat zich op het plantmateriaal brandsporen bevinden.

2. In het eerste jaar treedt infectie op zonder dat de groei hierdoor opvallend wordt beïnvloed.

3. In de laatste weken van het groeiseizoen en vooral na het drogen en schoonmaken van de knollen zijn in veel gevallen de brandsori zichtbaar op de knolschubben.

4. Microscopisch onderzoek heeft uitgewezen dat zowel in knollen met als zonder sori mycelium in het knolvlees aanwezig kan zijn.

5. Aangetaste planten ontstaan uit knollen die bij het planten reeds doorwoekerd zijn met mycelium van de brandschimmel en die in het voorafgaande groeiseizoen zijn geïnfecteerd.

SUMMARY

Hitherto nothing has been known about the mode of infection of gladiolus by *Urocystis gladiolicola* Ainsw. Experiments with naturally and artificially infested planting material have now provided answers to some of the problems.

The paper gives an account on the life cycle of this smut from a study of the progeny of gladiolus Van Tienhoven plants in which 17.6 % were killed in 1956.

The corms were examined macroscopically for sori in the scales and in the corm flesh (Limber, 1948, 1952). The scales of corms and cormels were examined microscopically for spores (originating from diseased plants of the year before). Radial sections through the corm were examined for mycelium after fixation for 5–24 hours in ethanol 95 %, clearing in a boiling solution of chloralhydrate for a few minutes and boiling in lactophenol with 0.05 % cotton blue for 4–5 minutes. This is called Standard Method (S.M.).

From the results, summarized in table 1, it is concluded:

1. Infection is possible from spores adhering to the scales of corms and cormels.

2. Growth is not markedly influenced by the disease in the season of infection.

3. In many cases sori are visible in the scales during the last weeks of the growing season and especially after digging and cleaning.

4. It was shown by microscopical observations (S.M.), that mycelium may be present in corms with and without sori.

5. Diseased plants arise from corms carrying mycelium at the time of planting, the infection having taken place in the foregoing year.

Preliminary results of experiments with hot-water treatments and disinfection before planting give good hope of control.

LITERATUUR

Ainsworth, G. C., – 1949. The Gladiolus smut. Trans. Brit. myc. Soc. 32: 255–257.

Dodge, B. O. & Th. Laskaris, – 1941a. The smut disease of Gladiolus. Science N.S. 93: 111.

Dodge, B. O. & Th. Laskaris, – 1941b. Papulaspora gladioli. Bull. Torr. bot. Club 68: 289–294.

Hotson, H. H., – 1942a. The morphological distinction between Urocystis gladioli and Papulaspora gladioli. Mycologia 34: 52–58.

Hotson, H. H., – 1942b. Some species of Papulaspora associated with rots of Gladiolus bulbs. Mycologia 34: 391–399.

Limber, D. P., – 1948. Sori of Urocystis gladioli on gladiolus corm scales. Phytopath. 38: 922–925.

Limber, D. P., – 1952. Sori of gladiolus smut in the white flesh of gladiolus corms. Phytopath. 42: 578.

Moore, W. C., – 1939. Diseases of bulbs. Min. Agr. Fish. London, Bull. 117: 176pp.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 479–481

PRELIMINARY NOTE ON NUCLEIC ACID SYNTHESIS IN TOBACCO PLANTS INFECTED WITH TOBACCO MOSAIC VIRUS[1]

Met een samenvatting: Nucleïnezuur-synthese in tabaksplanten, geïnfecteerd met tabaksmozaïekvirus

BY

S. WAGENAAR

Laboratory of Flowerbulb Research, Lisse, The Netherlands

A number of viruses are difficult to extract from plants. If these viruses cause almost no symptoms on infected plants, it becomes difficult to be sure if a plant is healthy. Since synthesis of a virus means for the plant synthesis of a new substance it might be possible to measure changes in metabolism induced by infection. Most viruses are nucleoproteins and according to GIERER & SCHRAMM (1956) is for tobacco mosaic virus (TMV) the nucleic acid the most important part. Experiments were undertaken to investigate differences in nucleic acid (NA) metabolism between healthy and infected plants. As part of these experiments changes in NA content of homogenates that were kept at 5 °C for different periods of time were measured. Throughout the experiments tobacco plants (White Burley) infected with TMV were used. In all experiments full-grown systemically infected leaves were compared with the same amount of fresh weight of healthy leaves of the same physiological age. The leaves were homogenated with Tris buffer pH 7.0. After homogenating the pH was found to be 6.8 and decreased to 6.6 at the end of the experiment. NA was extracted according to SCHNEIDER (1945) and measured as P by KING's modification of FISKE & SUBBAROW (1932).

Figure 1 gives the account of a typical experiment. In this particular case leaves were harvested 30 days after the plants were infected. The homogenates

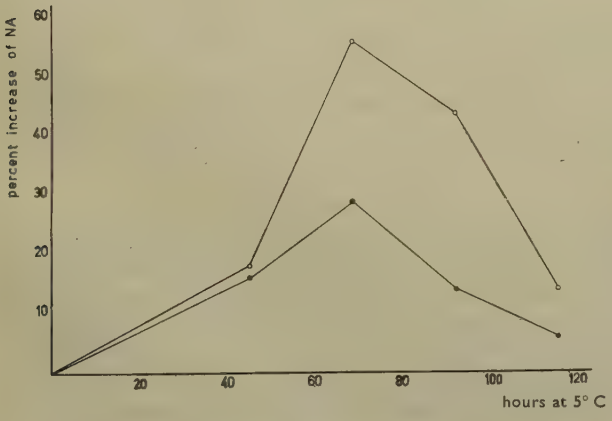


FIG. 1.
Percent increase of NA in homogenates of healthy (•——•) and infected (○——○) plants stored at 5°C for several hours.
Procentuele toeneming van nucleïnezuur in homogenaten, die een bepaalde tijd bewaard werden bij 5 °C.

[1] Accepted for publication 29 August 1958.

were kept at 5 °C for several days and samples taken at appropriate intervals of time. During the first few days the NA content of the homogenates increases, the increase being greatest for the homogenates of infected plants. After about 65 hours the NA content decreases in both homogenates, remaining highest for infected plants.

The homogenates were examined more closely. They were divided in two parts. One was kept for 45 hours at 5 °C, the other was washed twice, taken up in buffer and kept for 45 hours at 5 °C. NA content of the different samples was measured. Table 1 gives an account of a typical experiment in which leaves were harvested after 30 days of infection. At the beginning of the experiment NA content of the unwashed homogenates was compared with NA content of the pellets and combined supernatants. The recovery of NA after washing was nearly 50 percent, being about the same for both homogenates. TMV is found in the supernatant. Since 42 percent of the NA of infected plants was TMV, the amount of NA left in the pellet of infected plants was smaller than for healthy plants. If the NA of infected plants was corrected for TMV the amount of NA in the pellet was relatively the same for both homogenates.

TABLE 1. Percent recovery of NA after washing the homogenates twice.
Percentage nucleïnezuur, teruggevonden nadat de homogenaten gewassen waren.

	Healthy / *gezond*	Infected / *geïnfecteerd*
Pellet + supernatant / *neerslag* + *bovenst. vloeistof*	52	54
Pellet / *neerslag*	29	20

Table 2 confirms former experiments in that increase of NA of unwashed homogenates stored at 5 °C is greatest for infected plants. NA content of washed homogenates increases as well. However, the increase of healthy plants is about four times that of unwashed homogenates, while the increase of infected plants is relatively the same as that of unwashed homogenates. So, the increase of NA in washed homogenates became greatest for homogenates of healthy plants.

TABLE 2. Percent increase of NA in unwashed and washed homogenates kept for 45 hours at 5 °C.
Procentuele toeneming van nucleïnezuur in gewassen en onbehandelde homogenaten, die 45 uur bij 5 °C bewaard waren.

	Healthy / *gezond*	Infected / *geïnfecteerd*
Unwashed / *onbehandeld* . . .	11	23
Washed / *gewassen*	42	24

It seems likely that homogenates of healthy plants contain a substance that inhibits synthesis of NA; the substance is removed by washing. Homogenates of infected plants might not contain the inhibitory substance. That makes it unlikely that the substance is a simple ion. However, there are other possible explanations. More experiments are required to elucidate some of the problems. They may also throw light on the question if the enzyme that catalizes the synthesis of NA is of the nature of the one found by GRUNBERG-MANAGO & OCHOA (1955) in *Azotobacter* that catalizes synthesis of polynucleotides.

SAMENVATTING

Wanneer gezonde en zieke tabakbladeren, na met Tris buffer van een pH 7,0 te zijn gehomogeniseerd, enige dagen bij 5 °C worden bewaard, neemt de hoeveelheid nucleïnezuur gedurende de eerste dagen toe en vervolgens af. De toeneming is het grootst voor zieke planten. Wanneer de homogenaten gewassen worden met de buffer en vervolgens 45 uur bij 5 °C bewaard, wordt opnieuw een toeneming van nucleïnezuur gevonden, die voor zieke planten gelijk is aan die van het ongewassen homogenaat, maar voor gezonde ongeveer vier keer zo groot. Vermoedelijk is in homogenaten van gezonde planten een remstof aanwezig, die door wassen wordt verwijderd.

AKNOWLEDGEMENT

The author is indebted to Drs KAUFMANN and MCDONALD, at the Department of Genetics, Carnegie Institution of Washington, Cold Spring Harbor, N.Y. for hospitality at their laboratory and helpful advice during part of the experiments.

REFERENCES

GIERER, A. & G. SCHRAMM, – 1956. Infectivity of ribonucleic acid from tobacco mosaic virus. Nature 177: 702–703.

GRUNBERG-MANAGO, M. & S. OCHOA, – 1955. Enzymatic synthesis and breakdown of polynucleotides; polynucleotide phosphorylase. J. Am. chem. Soc. 77: 3165–3166.

KING, E. J., – 1932. The colorimetric determination of phosphorus. Biochem. J. 26: 292–297.

SCHNEIDER, W. C., – 1945. Phosphorus compounds in animal tissues. Extraction and estimation of desoxiribonucleic acid and ribonucleic acid. J. biol. Chem. 161: 293–303.

T. Pl.ziekten 64 (1958): 482–484

OVER DE SEROLOGISCHE VERSCHILLEN TUSSEN *POLYSPORA LINI* EN *PULLULARIA PULLULANS*[1]

With a summary: On serological differences between Polyspora lini *and* Pullularia pullulans

DOOR

A. TEMPEL

Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse,
gedetacheerd door het Laboratorium voor Phytopathologie, Wageningen

INLEIDING

De schimmels *Polyspora lini* LAFF. en *Pullularia pullulans* (DE BARY) BERKH. zijn gistachtige organismen, die beide gerekend worden tot de *Fungi imperfecti*. Ze zijn morfologisch nauw verwant. *Polyspora lini* is de veroorzaker van het zogenaamde verbruinen van vlas. *Pullularia pullulans* is een pectinesplitsende saprofyt, die schade kan veroorzaken in opgeslagen hout en bij de papierbereiding en de voornaamste rol speelt bij de afbraak van bladafval (SMIT & WIERINGA, 1953). Beide schimmels zijn in een aantal typen te splitsen op grond van kleur en vorm (NICKL-NAVRDTIL, 1951; SMIT & WIERINGA, 1953).

WHITE (1945) vergeleek twee isolaties van *Pullularia pullulans* afkomstig uit Canberra en Tasmanië met vier isolaties van *Polyspora lini* afkomstig uit Victoria, Nieuw Zeeland en Ierland. Hij kwam tot de conclusie, dat de twee schimmels noch in morfologisch, noch in fysiologisch opzicht voldoende van elkaar verschillen om ze in verschillende geslachten onder te brengen. Hij onderzocht de schimmels ook serologisch, maar ook in dit opzicht bleken de zes isolaties niet te verschillen. Hij stelde dan ook voor, de naam *Polyspora lini* te laten vervallen en deze schimmel voortaan *Pullularia pullulans* var. *lini* te noemen.

Hoewel de serologie ons niet het definitieve criterium kan leveren of twee schimmels al dan niet tot hetzelfde geslacht behoren, werd in het hier volgend onderzoek toch voor enkele isolaties nagegaan of de serologische identiteit ook voor Nederlandse isolaties van *Pullularia* en *Polyspora* opgaat.

BEREIDING VAN ANTISERA

Van één isolatie van *Polyspora lini* en van twee van *Pullularia pullulans*, geïsoleerd van vlas en van *Forsythia*[2] werden schudcultures in Czapek voedingsbodems bereid. Na enkele weken groei werd de schimmel afgecentrifugeerd, gewassen met, en vervolgens geresuspendeerd in een fysiologische zoutoplossing. Met deze suspensies werden volwassen konijnen intraveneus ingespoten, waarbij het volgende spuitschema werd gevolgd: drie dagen spuiten, twee dagen rust, één dag spuiten, twee dagen rust, vijf dagen spuiten, vijf dagen rust, verbloeden. De hoeveelheden werden langzaam opgevoerd van drie tot vijf ml per konijn.

[1] Aangenomen voor publikatie 8 augustus 1958.

[2] Voor het verstrekken van de schimmels ben ik dank verschuldigd aan Dr. K. T. WIERINGA van het Laboratorium voor Microbiologie te Wageningen en aan Ir. J. VAN DER SPEK van het Laboratorium voor Phytopathologie te Wageningen.

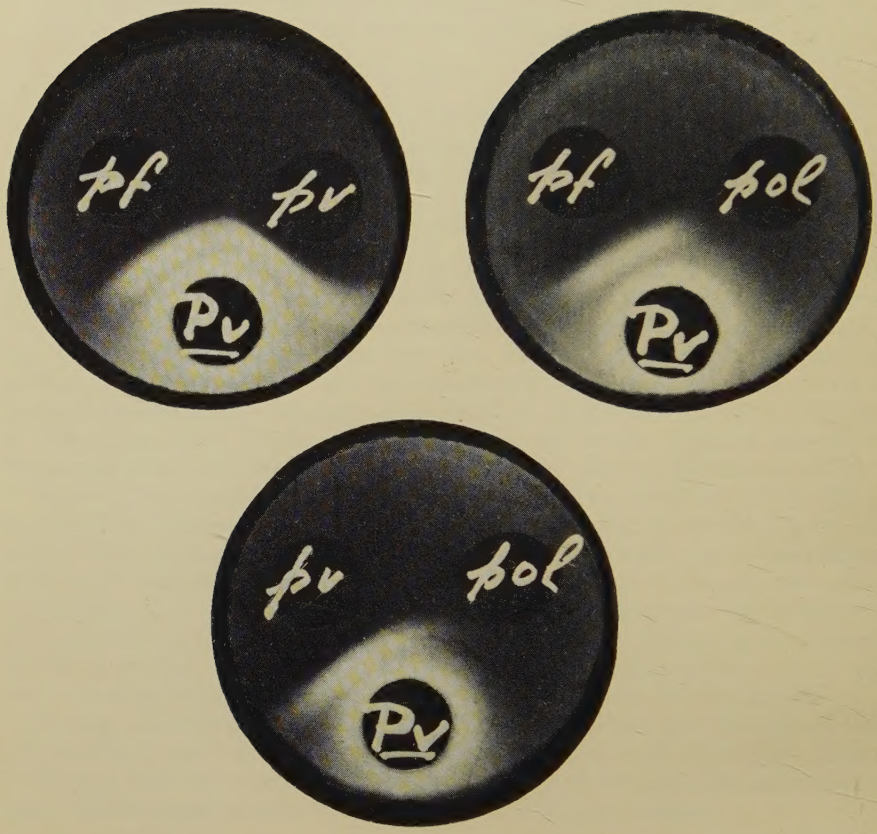


FIG. 1. Specifieke reactie in agargel van serum tegen een van vlas geïsoleerde stam van *Pullularia pullulans* (= Pv) met de cultuurfiltraten van *Pullularia pullulans*, geïsoleerd van *Forsythia* (= pf), *Pullularia pullulans*, geïsoleerd van vlas (= pv) en *Polyspora lini* (= pol).
Specific gel diffusion reaction of serum against Pullularia pullulans *isolated from flax* (= Pv), *and the culture liquids of* Pullularia pullulans *isolated from* Forsythia (= pf), Pullularia pullulans *isolated from flax* (= pv), *and* Polyspora lini (= pol).

AGGLUTINATIE-REACTIE

De schimmels agglutineren spontaan in een fysiologische zoutoplossing, zodat de agglutinatie-reactie niet toegepast kan worden.

PRECIPITATIE-REACTIE

Precipitatie-reacties werden uitgevoerd volgens de micromethode van VAN SLOGTEREN (1955). Als toetsantigenen werden de in bevroren toestand bewaarde cultuurfiltraten gebruikt. Deze gaven met normaal serum geen precipitatievlokken, met de verkregen antisera daarentegen wel. Antiserum tegen een stam van *Pullularia* reageerde zowel met het cultuurfiltraat van *Pullularia* als met dat van *Polyspora* en omgekeerd. Bij reacties met verdunningsreeksen van de sera bleken geringe kwantitatieve verschillen te bestaan tussen de stammen van *Pullularia* enerzijds, en die van *Polyspora* anderzijds.

GELDIFFUSIE-REACTIE

Om na te gaan of de gevonden kwantitatieve verschillen veroorzaakt werden door kwalitatief verschillende antigenen, werd de geldiffusie-methode toegepast (OUCHTERLONY, 1949; VAN SLOGTEREN, 1955). De reactie werd uitgevoerd in kleine agarplaatjes (16 mm diam.), waarin drie putjes (4 mm diam.) werden geponst. Het onderste putje werd gevuld met serum, de twee bovenste met twee verschillende antigenen. Ook in de agar reageerden de sera met de cultuurfiltraten van beide schimmels en gaven één of meer in elkaar vervloeiende, diffuse lijnen. Serum tegen *Pullularia* gaf echter met de filtraten van *Pullularia* nog een extra lijn, die het niet met het filtraat van *Polyspora* gaf (fig. 1). Evenzo gaf het serum tegen *Polyspora lini* een specifiek lijntje met het filtraat van *Polyspora lini*. De specifieke lijnen bleven zichtbaar als de agar werd verzadigd met het heterologe antigeen (specifieke remmingsreactie volgens BJÖRKLUND, 1952), wat bewijst, dat de verschillen van kwalitatieve aard zijn.

SAMENVATTING EN CONCLUSIES

Langs serologische weg kon worden aangetoond, dat de hier onderzochte stam van *Polyspora lini* LAFF. een kwalitatief verschil vertoont met twee stammen van *Pullularia pullulans* (DE BARY) BERKH., die onderling identiek zijn. De omvang van het onderzochte materiaal is te gering om algemeen geldende conclusies te kunnen trekken. De mogelijkheid is bijvoorbeeld niet uitgesloten, dat bij onderzoek van een groot aantal isolaties van *Pullularia pullulans* soortgelijke verschillen als hier beschreven, binnen de groep zelve naar voren komen.

SUMMARY

A culture of *Polyspora lini* LAFF., which causes browning of flax, was compared serologically with two cultures of *Pullularia pullulans* (DE BARY) BERKH. isolated in Holland from flax and from *Forsythia*. Although there is a serological relationship between the two fungi, they differ in one factor. This could be demonstrated by the gel diffusion method (OUCHTERLONY, 1949; VAN SLOGTEREN, 1955) (fig. 1). The results do not agree with those of WHITE (1945), who

found that two cultures of *Pullularia pullulans* from Canberra and Tasmania and four of *Polyspora lini* from two places in Victoria and one each in New Zealand and Ireland were serologically identical.

LITERATUUR

BJÖRKLUND, B., – 1952. Specific inhibition of precipitation as an aid in antigen analysis with gel diffusion method. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 79: 319–327.

NICKL-NAVRDTIL, H., – 1951. Beobachtungen und Untersuchungen über den Erreger der Flachsbräune (Polyspora lini Lafferty). Faserforsch. u. Textiltechn. 2: 453–455.

OUCHTERLONY, O., – 1949. Antigen-antibody reactions in gels. Ark. Kemi. Miner. Geol. 26B: 1–9.

SLOGTEREN, D. H. M. VAN, – 1955. Serological micro-reactions with plant viruses under paraffin oil. Proc. 2nd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen, 1954: 51–54.

SLOGTEREN, D. H. M. VAN, – 1955. Serological analysis of some plant viruses with the gel-diffusion method. Proc. 2nd Conf. Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen, 1954: 45–50.

SMIT, J. & K. T. WIERINGA, – 1953. Microbiological decomposition of litter. Nature 171: 794–795.

WHITE, N. H., – 1945. The relation of Polyspora lini Lafferty and Pullularia pullulans (De Bary) Berkh. to flax browning. J. Counc. sci. industr. Res. Austr. 18: 141–149.